Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

UNTER MITWIRKUNG DER FACHGRUPPE ANALYTISCHE CHEMIE
DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER
VERTRETEN DURCH
H. KIENITZ W. KOCH H. LUTHER H. SPECKER

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

171. BAND, 5. HEFT

MIT 25 ABBILDUNGEN IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 12. DEZEMBER 1959)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

J.F. BERGMANN · MÜNCHEN

1959

Z. analyt. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C.W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C.W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 63—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0,30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 171 **Inhaltsverzeichnis** Heft 5

Originalabhandlungen

Seite

Neeb, R., Anodische Amalgamvoltammetrie. I. Grundlagen des Arbeitverfahrens. II. Die Bestimmung kleiner Mengen von Pb, Cd, Bi und Tl. Mit 17 Textabbildungen 321

Gutmann, V., und G. Schöber, Polarographische Untersuchungen in wasserfreiem Dimethylsulfoxyd. I. Mitteilung 339

Mahr, C., und B. Seeger, Titrationsverfahren mittels Redoxverschiebung. I. Die maßanalytische Kupferbestimmung mit Eisen(II)-sulfat. Mit 2 Textabbildungen . 343

Korkisch, J., und M. Osman, Solochrome Violet R als Reagens zur spektrophotometrischen Bestimmung von Mikrogrammengen Molybdän. Mit 3 Textabbildungen 349

Hirsjärvi, V. P., E. Kenttämaa, M. Suurinkeroinen, B. Aimonen und R. Martti, Über die Bestimmung von Fluor in Gegenwart einiger störender Ionen 354

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie der Universität Mainz

Anodische Amalgamvoltammetrie

I. Grundlagen des Arbeitverfahrens
II. Die Bestimmung kleiner Mengen von Pb, Cd, Bi und Tl

Von
ROLF NEEB

Mit 17 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. Juli 1959)

Die weitgehend benutzten polarographischen Analysenverfahren gestatten bei Verwendung handelsüblicher Geräte die Durchführung von Analysen in 10^{-5} bis $5 \cdot 10^{-6}$ m Lösungen. Eine weitere Steigerung der Empfindlichkeit ist damit nur noch zu erreichen, wenn man die polarographische Bestimmung in kleinsten Volumina ausführt[14]. Für die praktische Analyse aber stellt das quantitative Arbeiten mit derartigen Mengen eine außerordentliche Erschwerung dar, besonders wenn der eigentlichen Bestimmung eine mehrfache Abtrennung und Konzentrierung der Substanz vorausgehen muß. Es erscheint daher in der Regel zweckmäßiger, höhere Empfindlichkeiten der Bestimmung durch die Möglichkeit der Analyse verdünnterer Lösungen zu erzielen. Bei der Verwendung der normalen Quecksilbertropfelektrode in der üblichen Anordnung lassen sich allerdings derartige Lösungen nicht mehr analysieren, da der bei der Wirkungsweise der Tropfelektroden entstehende Kapazitätsstrom[6] die Messung kleinerer Diffusionsströme erheblich erschwert oder sogar unmöglich macht.

Um dennoch höhere Empfindlichkeiten zu erreichen, muß man entweder feste Elektroden verwenden oder aber durch Überlagerung besonderer Wechselspannungen bei der Aufnahme der polarographischen Kurve den Hauptteil des Kapazitätsstromes eliminieren[1]. Die dazu erforderliche Meßanordnung ist außerordentlich kompliziert und beschränkt die Anwendung derartiger Techniken.

Eine weitere erhebliche Steigerung der Empfindlichkeit erreicht man, wenn man sich nicht auf die Reduktion der Metalle an der Hg-Kathode beschränkt, sondern die bei der anodischen Auflösung von Amalgamen entstehenden Ströme auswertet. Dabei stellt man das Amalgam meist durch elektrolytische Abscheidung der Metalle an kleinen Hg-Elektroden dar[2,3,9]. Beim anodischen Auflösungsvorgang wird dann entweder der gesamte Auflösungsstrom gemessen[7] oder aber die besonders bei schnellen Spannungsänderungen auftretenden Spitzenströme, die bei der

anodischen Amalgamvoltammetrie* in analoger Weise zur Reduktion der Metalle an festen Elektroden entstehen[10,12]. Ihre Größe ist der Konzentration des Elementes im Amalgam proportional, und damit bei entsprechend gewählten Bedingungen der elektrolytischen Herstellung des Amalgams, der Konzentration des Elementes in der wäßrigen Lösung.

Für die Anwendbarkeit in der praktischen Analyse ist nun festzustellen, ob derartige Spitzenströme in reproduzierbarer Weise zu erhalten sind, welche Elektroden und welche Geschwindigkeit des Spannungsabfalls gut auswertbare Spitzen ergeben und unter welchen Bedingungen geringste Mengen von Metallen damit bestimmt werden können.

I. Grundlagen des Arbeitsverfahrens

Apparatur

Die Registrierung derartiger bei schnellen Spannungsänderungen an festen Elektroden auftretender Ströme erfolgt meist mit dem Kathodenstrahloscillographen[5]. Auf einfache Weise lassen sich diese Ströme auch mit einem Spiegelgalvanometer mit kurzer Einstellzeit messen. Die Apparatur wird damit sehr übersichtlich, und die Auswertung der auf einer Phototrommel registrierten Stromkurven liefert genaue Werte.

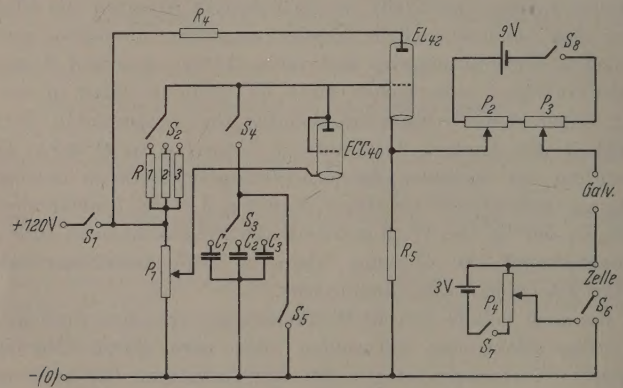

Abb. 1. Schaltung des Spannungserzeugers. $C_1 = 4\ \mu F$; $C_2 = 8\ \mu F$; $C_3 = 16\ \mu F$; $R_1 = 5\ M\Omega$; $R_3 = 10\ M\Omega$; $R_9 = 25\ M\Omega$; $R_4 = 3\ k\Omega$; $R_5 = 500\ \Omega$; $P_1 = 0{,}2\ M\Omega$; $P_2 = 500\ \Omega$; $P_3 = 10$—$50\ \Omega$; $P_4 = 1\ k\Omega$

Spannungserzeuger. Durch Aufladen eines Kondensators entsteht ein langsam ansteigender Strom, der an dem Widerstand (R_5) eines Kathodenverstärkers (Röhre EL 42) einen Spannungsabfall erzeugt. Einzelheiten gehen aus dem Schaltbild (Abb. 1) hervor. Die Röhre ECC 40 (jede Diode ist gleichfalls brauchbar) dient zur Begrenzung des Aufladevorgangs[13].

Mit den angegebenen Werten erhält man 0,08—2,0 V/sec. Durch P_2 u. P_3 (Feineinstellung) läßt sich jedes Anfangspotential einstellen. P_4 regelt die Spannung des Elektrolysekreises der sich durch S_6 auf den Spannungserzeuger umschalten läßt.

* In der anglo-amerikanischen Literatur als „Anodic-Stripping" Polarographie (bzw. Voltammetrie) bezeichnet.

Vor Beginn des Spannungsanstieges wird nach Schließen von S_4 durch Betätigung von S_5 (Druckknopf) der Kondensatorkreis kurz geerdet, anschließend erhält man durch Öffnen von S_4 und S_5 die Nullstellung (V_8). Schließt man nun S_4, so beginnt der Spannungsanstieg, dessen Größe durch P_1 und dessen Schnelligkeit durch R_{1-3} und C_{1-3} gegeben ist. Der Betrieb des Spannungserzeugers erfolgt durch Batterien.

Galvanometer. Schnellstschwingendes (30 Hz) Spiegelgalvanometer (Ruhstrat). Stromkonstante: $2 \cdot 10^{-8}$ A/mm/m; $Ri = 200\,\Omega$; $Ragr = 2000\,\Omega$.

Registrierung. Eine Projektionslampe mit Zylinderlinse erzeugt über den Spiegel des Galvanometers auf den Spalt der Registriertrommel einen schmalen Lichtstrich, der bei umlaufender Trommel eine scharfe Linie ergibt. Durch Auswechseln der Getriebe des Antriebsmotors* erhält man verschiedene Umdrehungsgeschwindigkeiten. Es wurde Bromsilberregistrierpapier von 10 und 20 cm Breite benutzt, das auf der rotierenden Trommel aufgespannt war.

Elektrolysezellen und Elektroden

Fast alle Messungen erfolgten gegen eine gesättigte Kalomelelektrode, die bei den großen (20 ml-Zellen) (Abb. 2a) über eine Agar-Agarbrücke mit der Lösung verbunden ist. Bei der 1 ml-Zelle (Abb. 2b) wird der Kontakt mit der Lösung über ein mit

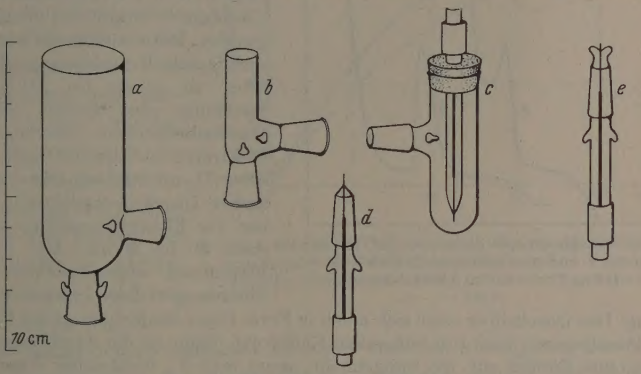

Abb. 2a—e. Elektrolysezellen und Elektroden

Agar-Agar gedichtetes Diaphragma hergestellt, das sich in der Spitze eines kleinen Normalschliffs befindet (Abb. 2c). Der Gesamtinnenwiderstand der Zelle soll nicht wesentlich über $1000\,\Omega$ (mit 0,1 m NaCl-Lösung) liegen, andernfalls ist das Diaphragma zu dicht bzw. der Widerstand der Agar-Agarbrücke zu groß. In Halogenidlösungen ist auch eine Silbervergleichselektrode[11] brauchbar, die aus einem 10 mm langen Ag-Draht von 1 mm ⌀ besteht, der an Stelle der Kalomelelektrode eingeführt wird. Die Elektroden sind entweder Drahtelektroden (Abb. 2d) oder aber kleine Quecksilbertröpfchen, die man von einer normalen Tropfelektrode auf die zu einem kleinen Näpfchen erweiterten Platindrahtelektroden (Abb. 2e) bringt. Die Elektroden werden durch einen Normalschliff in der richtigen Lage gehalten. Ein Rührer taucht von oben in die in den Elektrolysezellen befindliche Lösung bis dicht über die Elektrode. Die eigentliche voltammetrische Bestimmung erfolgt nun in drei Schritten. Nach Vorbereitung einer geeigneten Elektrode (1. Schritt) wird unter definierten Bedingungen das Metall in das Quecksilber elektrolysiert (2. Schritt);

* Als sehr brauchbar erwies sich auch ein stufenlos einstellbares Getriebe von 2—36 U/min (Fa. Heidolph-Schwabach).

anschließend wird das entstandene Amalgam durch schnelle Abnahme der Spannung von der Elektrolysespannung auf etwa 0 Volt wieder aufgelöst (3. Schritt). Die Höhe der dabei entstehenden Stromspitze (siehe Abb. 3) dient zur Ermittlung der Konzentration des Elementes in der wäßrigen Lösung.

Die Elektrode und ihre Vorbereitung

Als Drahtmaterial für die Elektroden sind Gold, Silber und Platin geeignet. Aus Gründen der besseren Reinigung ist Platin vorzuziehen. Ein Drahtdurchmesser von 0,3 mm und eine Länge von 4—5 mm sind optimal. Dünnere oder dickere Drähte sind ebenfalls brauchbar. Vergrößert man Durchmesser und Länge des Drahtes, so treten entsprechend der Zunahme der Oberfläche höhere Spitzenströme auf. Im gleichen Maße nimmt aber auch der Grundstrom (Leerstrom) zu, der die Auswertung der Stromspitzen bei hoher Empfindlichkeit erschwert.

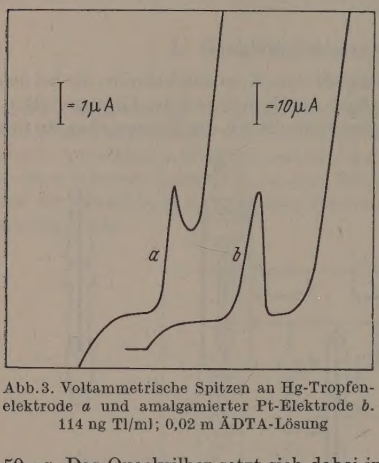

Abb. 3. Voltammetrische Spitzen an Hg-Tropfenelektrode *a* und amalgamierter Pt-Elektrode *b*. 114 ng Tl/ml; 0,02 m ÄDTA-Lösung

Vor jeder Bestimmung wird der Platindraht nach sorgfältiger Reinigung (mit heißer Salpetersäure, unter Umständen Ausglühen) frisch amalgamiert. Dazu wird er als Kathode in einer Quecksilbersalzlösung mit Quecksilber als Anode bei 1,0 bis 1,5 V Spannung elektrolytisch mit einer Quecksilberschicht überzogen. Als Elektrolyt ist eine 0,1%ige Quecksilber(II)-nitratlösung oder irgendeine andere Quecksilbersalzlösung brauchbar. Die Elektrolysenströme betragen etwa 30 bis 60 μA. Die auf dem Platindraht abgeschiedenen Quecksilbermengen liegen zwischen 15 und 50 μg. Das Quecksilber setzt sich dabei in Form feiner Tröpfchen auf der Elektrode ab. Amalgamiert man mit ruhendem Elektrolyt, dann ist die Amalgamationszeit (T_A) ohne Einfluß auf die Spitzenhöhe, wenn man T_A nicht unter 3 min wählt. Bei den in dieser Arbeit ausgeführten Bestimmungen wurde stets mit $T_A = 5$ min und $V_A = -1{,}5$ V gearbeitet. Versucht man das Amalgamieren der Platinelektrode zugleich mit der Elektrolyse der Metallösung zu verbinden, was dadurch möglich ist, daß man der Grundlösung etwa 20—100 μg Hg/ml zusetzt, so zeigt sich, daß zwar schwächere, aber recht brauchbare Stromspitzen auftreten. Daneben entstehen noch nach unten gehende kathodische Spitzen, die von nicht vollständig abgeschiedenem Quecksilber herrühren. Im Prinzip kann man also die Amalgamation der Elektrode und die Elektrolyse zusammen ausführen. Die dabei etwas komplizierter werdenden Stromspannungskurven erschweren die sichere Auswertung, so daß in der Regel die getrennte Ausführung der beiden Schritte vorzuziehen ist.

Neben der amalgamierten Platinelektrode fanden gelegentlich auch stationäre Quecksilberelektroden Verwendung (Abb. 2e). Dazu läßt man in die trichterförmige Vertiefung (2—3 mm ⌀) aus einer normalen Tropfelektrode 1—2 Quecksilbertröpfchen fallen. Der elektrische Kontakt erfolgt über das kurze Ende eines eingeschmolzenen Platindrähtchens, das vorher amalgamiert wurde. Die sonstige Aufnahme der Voltagramme erfolgt unter gleichen Bedingungen wie bei der amalgamierten Platinelektrode. Abb. 3 zeigt eine Gegenüberstellung der mit den beiden Elektrodentypen erhaltenen Stromspitzen.

Neben der etwa 10fachen Verringerung der Empfindlichkeit gibt die stationäre Quecksilberelektrode auch wesentlich schlechter ausgeprägte Spitzen, die daher für die gleichzeitige Bestimmung mehrerer Elemente nebeneinander weniger geeignet sein dürften.

Die Elektrolyse (Herstellung des Amalgams)

Die Menge des bei der Elektrolyse abgeschiedenen Metalls, die für die Höhe der anodischen Auflösungsspitze mit entscheidend ist, wird von der Ausführung der Elektrolyse erheblich abhängen. Außer den rein mechanischen Faktoren, wie Rührwirkung und Zellgeometrie, werden vor allem Elektrolysenstrom und -spannung die Vollständigkeit der Metallabscheidung beeinflussen. Die Spannung, bei der eine maximale Abscheidung stattfindet, ist für jedes Element und jede Grundlösung, eine charakteristische Größe, deren Kenntnis für die voltammetrische Bestimmung von großer Bedeutung ist. Der Verlauf der Spitzenhöhe in Abhängigkeit von der Elektrolysespannung (V_E) (bzw. von der Kathodenstromdichte) ist daher eine der wichtigsten Beziehungen der anodischen Amalgamvoltammetrie. Ist einmal der optimale Spannungsbereich für die Elektrolyse festgelegt, so wird die Spitzenhöhe nur noch von der Dauer der Elektrolyse (T_E) abhängen.

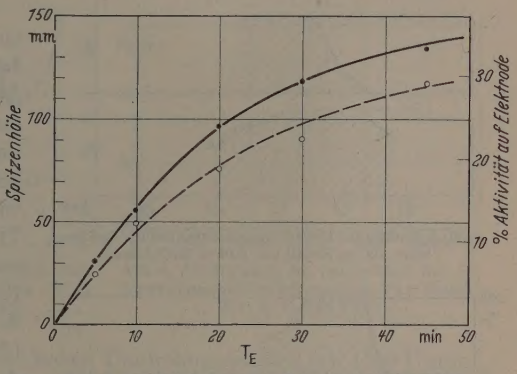

Abb. 4. Einfluß der Elektrolysezeit (T_E) auf die Spitzenhöhe. 60 ng Pb/ml; 0,02 m NaCl-Lösung; Galv. empf. $^1/_{10}$; $V_E = -1{,}5$ V; 1 ml-Zelle; Pt-Elektrode 5 mm × 0,3 mm; ——— Spitzenhöhe, — — — Aktiv

Abb. 4 zeigt die Spitzenhöhe in Abhängigkeit von der Dauer der Elektrolyse. Durch gleichzeitig zugesetzte unwägbare Mengen von ThB konnte die Abscheidung des Bleis an der amalgamierten Pt-Elektrode auch radiochemisch verfolgt werden. Man erkennt, daß Zunahme der Spitzenhöhe und abgeschiedene Aktivität auf der Elektrode den gleichen Verlauf zeigen. Eine vollständige Abscheidung des Bleis ist auch nach 45minütiger Elektrolyse in der 1 ml-Zelle noch nicht zu erreichen. In der größeren (20 ml) Zelle erhält man noch nach 30 min einen nahezu linearen Anstieg der Spitzenhöhe, da kaum eine Verarmung an dem zu bestimmenden Element auftritt.

In Abb. 5 und 6 wird die Abhängigkeit der Spitzenströme von der Elektrolysespannung in der Weise dargestellt, daß der maximale Spitzen-

strom jeweils zu 100 gesetzt wurde und die schwächeren Ströme dann in Prozenten dieses Stromes.

In 0,02 m NaCl-Lösung werden Pb, Cd und Tl also bei verhältnismäßig niedrigen Spannungen abgeschieden (Abb. 5). Eine Trennung dieser Elemente durch Elektrolyse bei verschiedenen Spannungen ist daher nicht möglich. Da die Auflösungspotentiale sich unterscheiden, kann man unter Umständen Gemische zweier Elemente nebeneinander bestimmen (siehe Cd/Pb, S. 330).

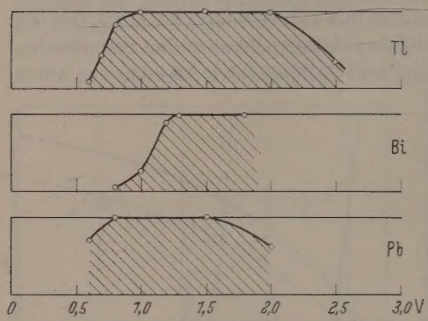

Abb. 5. Einfluß der Elektrolysespannung auf die Spitzenhöhe. 100 ng Metall/ml; 0,02 m NaCl-Lösung

Verwendet man dagegen eine stark komplexbildende Lösung, wie etwa eine 0,02 m ÄDTA-Lösung, dann erhält man von Cd in diesem Spannungsbereich überhaupt keine Stromspitzen mehr, während die Abscheidung des Thalliums infolge der Indifferenz des Tl(I)-Ions gegen Komplexbildner wieder bei der gleichen Spannung erfolgt (Abb. 6). Die Abscheidung des Bleis ist erst ab $-2{,}5$ V vollständig, während man die maximale Spitzenhöhe des Wismuts schon bei $-1{,}8$ V erhält. Durch Wahl einer geeigneten Elektrolysespannung wird man daher Bi vor dem Pb abscheiden können (siehe S. 334), ebenso Tl vor Bi und Pb (siehe S. 336). Da die Auflösungsspitzen des Wismutamalgams bei wesentlich positiveren Potentialen liegen als die des Thalliums und Bleis, lassen sich kleine Wismutmengen neben nicht zu viel Thallium (und Blei) gleichfalls gut bestimmen (siehe S. 334). Ihre Stromspitzen sind in ÄDTA-Lösung gut getrennt und können jede für sich ausgewertet werden.

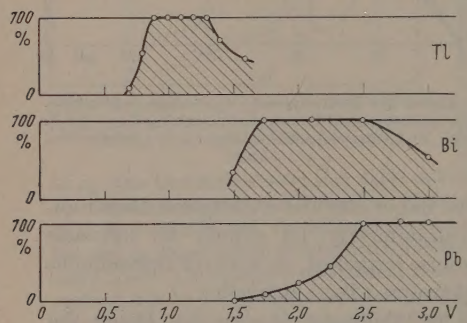

Abb. 6. Einfluß der Elektrolysespannung auf die Spitzenhöhe. 100 ng Metall/ml; 0,02 m ÄDTA-Lösung

Die richtige Wahl von V_E ist aber nicht nur von Einfluß auf die Höhe der Stromspitzen, sondern auch auf ihre Gestalt und die des Grundstromes und damit bei der Analyse verdünnter Lösungen auch auf die Genauigkeit der Auswertung.

Die Thalliumspitze in ÄDTA-Lösung nimmt z. B. bei hohem V_E wieder ab, gleichzeitig ist der Grundstrom immer schlechter ausgebildet (siehe Abb. 7) und damit die Auswertung erschwert. Man wird also auch diese Verhältnisse in jedem Fall bei der Wahl von V_E beachten müssen, um die besten Voltagramme zu erhalten.

Die Lösung wird während der Elektrolyse mechanisch gerührt. Die Wirksamkeit der Durchwirbelung der Lösung und damit auch der Elektrolyse hängt dabei von der Gestalt des Rührers und von der Umdrehungszahl des Rührmotors ab*.

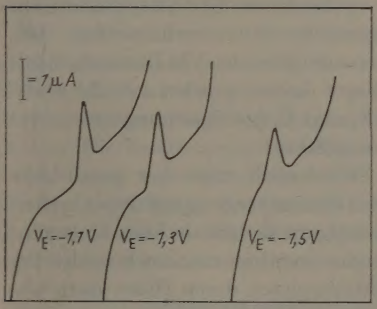

Abb. 7. Abhängigkeit der Spitzenhöhe und -gestalt von der Elektrolysespannung. 10 ng Tl/ml; 0,02 m ÄDTA-Lösung

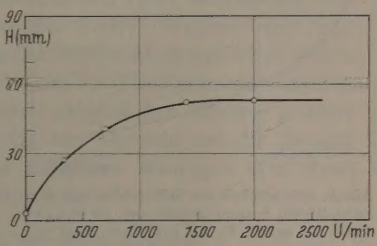

Abb. 8. Abhängigkeit der Spitzenhöhe von der Umdrehungszahl des Rührmotors. $T_E = 10$ min; $E = 1$; 11,4 ng Tl/ml

Wie Abb. 8 zeigt, wird bei hohen Umdrehungszahlen (ab 1500 U/min) also die Spitzenhöhe von der Geschwindigkeit des Umrührens unabhängig. Der Abstand Rührer—Elektrode war bei diesem Versuch (1 ml-Zelle) etwa 2—3 mm und ist ohne Einfluß auf die Spitzenhöhe, vorausgesetzt, daß man hohe Rührgeschwindigkeiten wählt.

In der großen Zelle ist es empfehlenswert, diesen Abstand möglichst konstant zu halten. Die Abhängigkeit von der Umdrehungszahl des Rührmotors ist in der gleichen Weise wie bei der 1 ml-Zelle gegeben.

Der anodische Auflösungsvorgang

Nach Beendigung der Elektrolyse (Ausschalten des Rührmotors) setzt man den anodischen Auflösungsvorgang nach Umschalten der Elektrolysezelle auf den betriebsbereiten Spannungserzeuger in Gang. Als Anfangsspannung nimmt man dabei die Elektrolysespannung, falls diese nicht höher als $-1{,}5$ ist. Bei höheren Elektrolysespannungen läßt man den Spannungsabfall bei $-1{,}5$ V beginnen. Gelegentlich sind zur Erzielung besser ausgebildeter Grundströme noch niedrigere Anfangsspannungen vorzuziehen. Ein einmal gebildetes Amalgam löst sich erst nach

* Ohne Rühren findet kaum eine Abscheidung statt. Die Rührer werden aus abgeflachten und verdrillten Glasstäben selbst bereitet.

Erreichen des Auflösungspotentials wieder auf, das Verringern der Spannung an der Elektrode nach der Elektrolyse ist also unbedenklich.

Nach RANDLES[10] und ŠEVČIK[12] sind die bei voltammetrischen Kurven auftretenden Spitzenströme von der Geschwindigkeit der Spannungsänderung abhängig. Abb. 9 zeigt, daß diese Abhängigkeit auch bei der anodischen Amalgamvoltammetrie in der gleichen Weise besteht. Mit steigendem $\Delta V/\Delta t$ nimmt aber auch der Grundstrom zu, gleichzeitig gestaltet sich die Registrierung schwieriger. 2—5 sec/V sind die nach den verschiedenen Gesichtspunkten am brauchbarsten erscheinenden Geschwindigkeiten. Alle Bestimmungen dieser Arbeit wurden mit 2,8 sec/V (R_2 und C_2 des Spannungserzeugers) ausgeführt.

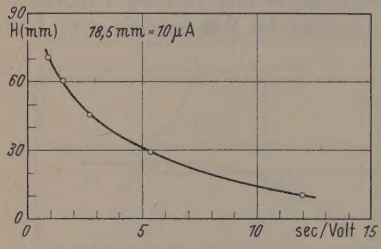

Abb. 9. Abhängigkeit der Spitzenhöhe von der sekundlichen Spannungsänderung. Cd in 0,1 n NaCl; 100 ng/ml; $T_E = 5$ min; Galv. empf. $^1/_3$

Wiederholt man den anodischen Auflösungsvorgang mit dem gleichen Amalgam mehrmals kurz hintereinander, so erhält man noch zahlreiche Stromspitzen deren Höhe stark abnimmt. Addiert man die unter den Spitzen liegende Fläche, die der zur vollständigen Auflösung des Amalgams notwendigen Strommenge (in Coulomb) proportional ist, so zeigt sich, daß die beim ersten Auflösungsvorgang nur etwa 15—20% des insgesamt vorhandenen Amalgams wieder aufgelöst werden.

Die Grundlösung

Nach dem Vorausgegangenen ergibt sich, daß die Zusammensetzung der für eine voltammetrische Bestimmung geeigneten Grundlösung für jedes Element zu ermitteln ist, wobei folgende Punkte beachtet werden müssen:

a) Ist das Element bei einer Elektrolysespannung zu bestimmen, bei der gleichzeitig gut ausgebildete Stufen (flache Grundströme) entstehen?

b) Ist eine Trennung von anderen Elementen zu erzielen?

c) Läßt sich die Lösung genügend rein herstellen bzw. reinigen?

Die Reinigung der Grundlösung ist bei der Bestimmung weitverbreiteter Elemente (Blei) von besonderer Wichtigkeit und stellt eine der Hauptschwierigkeiten bei der Analyse geringster Mengen dieser Metalle dar. Extraktionsverfahren mit organischen Reagentien sind dann unbrauchbar, wenn die in der Lösung verbleibenden geringen Mengen von organischen Verunreinigungen die voltammetrische Bestimmung stören. Die Bestimmung des Cadmiums ist z. B. in einer mit Dithizon/CCl_4 (beide dithizongerecht nach[4]) extrahierten NaCl-Lösung nicht mehr möglich, und es müssen dann spezielle Reinigungsverfahren entwickelt werden.

Die Elektrolyse an einer größeren Quecksilberkathode dürfte bei den voltammetrisch bestimmbaren Elementen wohl in der Mehrzahl der Fälle zum Ziele führen.

Die Entlüftung der Grundlösung ist nicht so sorgfältig vorzunehmen wie in der Polarographie, obwohl größere Mengen an gelöstem Sauerstoff zu einem steilen Grundstromanstieg führen und damit die Auswertung erschweren. In der Regel genügt es, die vorrätige Grundlösung einmal mit gereinigtem Stickstoff zu entlüften, ein Durchleiten von N_2 während der Elektrolyse ist nicht notwendig.

Zum Aufbewahren der Grundlösungen am besten geeignet sind Quarzkolben. Brauchbar sind auch Kunststoffflaschen (PÄ), obwohl die von diesem Material abgegebenen organischen Stoffe (Weichmacher und ähnliche) gelegentlich die voltammetrische Bestimmung erheblich stören können. Die Bestimmung des Bleis in einer in PÄ-Flaschen aufbewahrten NaCl-Lösung war z. B. in einem Fall nicht möglich, wo offenbar größere Mengen organischer Stoffe (erkenntlich am Geruch) an die Lösung abgegeben wurden. Die Stromspitzen in diesen Lösungen sind dann stark verzerrt bzw. treten überhaupt nicht auf.

Temperaturabhängigkeit der Spitzenströme

Die Größe der Spitzenströme wird von der Temperatur beeinflußt werden, da sowohl die Elektrolyse als auch der voltammetrische Auflösungsvorgang des Amalgams temperaturabhängig sind. Zur Bestimmung dieser Temperaturabhängigkeit werden Metallösungen in einer 1 ml-Zelle, die durch einen Wassermantel mit thermostatisiertem Wasser auf der gewünschten Temperatur ($\pm$ 0,5°C) gehalten wird, bei verschiedenen Temperaturen voltammetrisch bestimmt. Die Mittelwerte mehrerer Bestimmungen von Blei und Thallium bei verschiedenen Temperaturen sind in Tab. 1 angegeben. Der Temperaturkoeffizient ergibt sich als Abweichung von der mittleren Höhe zweier Mittelwerte.

Tabelle 1. *Temperaturabhängigkeit der Spitzenströme*

Element (Grundlösung)	Spitzenhöhen (mm)			Temperaturkoeffizient (%/°C)	
	20°C	40°C	60°C	20—40°C	40—60°C
Blei (0,02 m NaCl) (100 ng/ml)	48,4	65,4	92,3	1,35	1,70
Thallium (0,02 m ÄDTA-Lösung 100 ng/ml)	29,5	42,5	67,5	1,81	2,27

Die Spitzenströme zeigen also eine ähnliche Temperaturabhängigkeit wie die polarographischen Diffusionsströme; für genaue Analysen muß man daher die Bestimmung unter Beachtung der Temperaturkonstanz ausführen.

Im folgenden wird noch einmal kurz eine Zusammenfassung des Arbeitsganges für voltammetrische Bestimmungen gegeben:

1. Reinigung der Elektrode (HNO_3, Glühen) — amalgamieren (5 min bei −1,5 V) abspülen mit dest. Wasser — Zusammensetzen der Elektrolyseapparatur.

2. Nach Einfüllen der Grundlösung in Elektrolysekreis schalten — Elektrolyse-Spannung einstellen — Rührwerk in Gang setzen — Zeit stoppen.

3. Nach bestimmter Elektrolysezeit Rührer abschalten — Zelle auf betriebsbereiten Spannungserzeuger umschalten — Phototrommel und Galvanometer einschalten — Spannungsabfall an Zelle erzeugen — Spitze registrieren.

II. Anwendung zur Bestimmung kleiner Mengen von Cd, Pb, Bi und Tl

Im 1. Teil dieser Arbeit wurde gezeigt, daß unter Einhaltung konstanter Bedingungen für Elektrolyse und anodische Auflösung auch bei nicht quantitativem Verlauf dieser Vorgänge reproduzierbare Spitzenhöhen erhalten werden können. Im 2. Teil soll nun die Brauchbarkeit des Verfahrens bei der Bestimmung geringer Mengen einiger Metalle gezeigt werden. Über die Anwendung derartiger voltammetrischer Verfahren auf praktische Beispiele der Spurenanalyse wird später berichtet.

Cadmium

Cadmium ist in allen Neutralsalzlösungen zwischen −1,0 und −2,0 V bestimmbar. In Lösungen, in denen es als beständiger Komplex vorliegt,

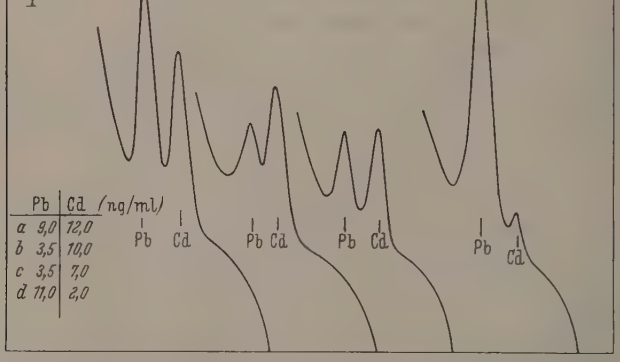

Abb. 10. Voltammetrische Bestimmung von Cd neben Pb in einer 0,02 m NH_4Cl-Lösung. Registriergeschwindigkeit verdoppelt, Registrierrichtung umgekehrt

findet keine (bzw. erst bei stark negativen Potentialen) Abscheidung statt. Tartrat-, Citrat- und ÄDTA-Lösung sind daher zur Bestimmung nicht brauchbar.

Alle Cd-Bestimmungen werden durch Tl gestört. Blei dagegen wird erst bei positiveren Potentialen abgeschieden, so daß die Spitzen kleiner Cd-Gehalte neben einem mehrfachen Pb-Überschuß noch gut auszuwerten sind. Abb. 10 zeigt Cd/Pb-Spitzen in 0,02 m NH_4Cl-Lösungen (Aufnahmebedingungen der Eichkurve in Abb. 11). Zur besseren Auswertbarkeit dieser eng zusammenliegenden Spitzen ist es oft zweckmäßig, die Registriergeschwindigkeit zu erhöhen und damit die Stromspannungskurven zu dehnen.

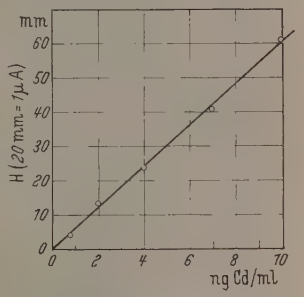

Abb. 11. Eichkurve: Cd in 0,02 m NH_4Cl-Lösung ($p_H \approx 3$). $V_E = -1{,}5$ V (Ag-Anode); $T_E = 30$ min; volle Galv. empf.

Die Beleganalysen der Tab. 2 wurden zum Teil in einer 0,02 m NH_4Cl-Lösung erhalten, zum Teil in einer 0,2 m NaBr-Lösung. Die Bestimmung von Cd ist darüber hinaus in jeder Neutralsalzlösung möglich, die aber durch Ansäuern mit einer reinen Säure auf einen p_H-Wert von 2,5—3,5 gebracht werden muß, da sonst streuende Werte auftreten. Derartige schwachsaure Cd-Lösungen sind in Konzentrationen bis zu einigen Zehntel ng/ml in PÄ- oder Quarzgefäßen mindestens mehrere Tage haltbar.

Tabelle 2. *Beleganalysen zur voltammetrischen Bestimmung des Cadmiums*

gegeben ng Cd/ml	gefunden ng Cd/ml	Abweichung	Fehler %	Grundlösung
0,8	0,5	−0,3	−38	0,02 m NH_4Cl
0,8	0,8	±0	± 0	„
1,4	1,5	+0,1	+ 7,2	„
2,0	2,3	+0,3	+15	„
4,0	3,9	−0,1	− 2,5	„
4,0	4,2	+0,2	+ 5,0	„
10,0	10,3	+0,3	+ 3,0	„
10,0	9,8	−0,2	− 2,0	„
4,0	3,5	−0,5	−12,5	0,2 m NaBr
8,0	8,2	+0,2	+ 2,5	„
10,0	10,8	+0,8	+ 8,0	„
10,0	10,5	+0,5	+ 5,0	„
20,0	20,2	+0,2	+ 1,0	„
20,0	19,3	−0,7	− 3,5	„
30,0	29,2	−0,8	− 2,7	„
30,0	28,0	−2,0	− 6,7	„
30,0	28,5	−1,5	− 5,0	„
40,0	38,5	−1,5	− 3,7	„
40,0	40,3	+0,3	+ 0,8	„
40,0	39,6	−0,4	− 1,0	„
50,0	51,1	−1,1	− 2,2	„

Arbeitsvorschrift zu Bestimmung des Cadmiums

a) 0,02 m NH_4Cl ($p_H = 2{,}5-3{,}5$), 0,5—10 ng Cd/ml. In der 1 ml-Zelle erhält man bei —1,5 V Elektrolysespannung (gegen Ag-Vergl.-Elektrode) und voller Galvanometerempfindlichkeit nach 30minütiger Elektrolyse geeignete Spitzenhöhen für diesen Konzentrationsbereich. Die Eichkurve der Abb. 11 verläuft geradlinig. 0,5 ng Cd sind gerade noch zu erkennen. Eine Steigerung der Galvanometerempfindlichkeit dürfte die Bestimmung noch kleinerer Mengen ermöglichen.

b) 0,2 m NaBr ($p_H = 3-4$), 5—50 ng Cd/ml. In der 1 ml-Zelle haben sich folgende Arbeitsbedingungen bewährt: $V_E = -1{,}0$ V; $T_E = 15$ min und volle Galvanometerempfindlichkeit. Die Eichkurve verläuft ebenfalls geradlinig. Die Spitzenhöhen sind kleiner als in Chloridlösungen.

Die Beleganalysen (Tab. 2) zeigen, daß in beiden Grundlösungen die Bestimmung kleiner Mengen Cd mit befriedigender und etwa gleich großer Genauigkeit möglich ist.

Blei

Blei ist in Grundlösungen verschiedenster Zusammensetzungen bestimmbar. In einfachen Salzlösungen findet die maximale Bleiabscheidung schon bei —1,0 V statt, während in komplexbildenden Lösungen die Elektrolysespannung auf —2,5 V erhöht werden muß (Abb. 5, 6). Obwohl alle Lösungen mit p. a. Reagentien und bidest. Wasser in PÄ-Flaschen angesetzt wurden, war der Blindwert dennoch erheblich (zwischen 5 und 20 ng Pb/ml). Zur Bestimmung kleinster Mengen von Blei wird also eine sehr sorgfältige Reinigung der Grundlösung notwendig sein.

Tabelle 3. *Beleganalysen zur voltammetrischen Bestimmung des Bleis in 0,02 m NaCl-Lösung*

gegeben ng Pb/ml	gefunden ng Pb/ml	Abweichung	Fehler %
2,5	2,8	+0,3	+12,0
2,5	3,0	+0,5	+ 2,0
5,0	4,8	—0,2	— 4,0
10,0	10,8	+0,8	+ 8,0
10,0	9,7	—0,3	— 3,0
10,0	11,2	+1,2	+12,0
10,0	9,5	—0,5	— 5,0
15,0	15,7	+0,7	+ 4,7
15,0	14,5	—0,5	— 3,3
15,0	14,6	—0,4	— 2,7
20,0	21,3	+1,3	+ 6,7
20,0	18,8	—1,2	— 6,0

Bestimmung des Bleis in 0,02 m NaCl-Lösung

Setzt man die Grundlösung mit bidest. Wasser und NaCl p. a. an, so hat man noch einen Blindwert von 3—4 ng Pb/ml (entsprechend $3 \cdot 10^{-4}$ % Pb des NaCl). Die Bestimmung von Bleimengen bis herunter zu etwa 2—3 ng/ml ist dann ohne weitere Reinigung der Grundlösung möglich. Für die Bestimmung von 2—20 ng Pb/ml hat sich folgende Arbeitsvorschrift bewährt: $V_E = 1{,}0$ V; $T_E = 5$ min; volle Galvanometerempfindlichkeit. Mit längeren Elektrolysezeiten ($T_E = 30$ min) dürfte in einer gereinigten Grundlösung die Bestimmung von 0,2 ng Pb/ml möglich sein.

Tab. 3 zeigt einige Beleganalysen, aus denen hervorgeht, daß 2—20 ng Pb nach dieser Vorschrift mit guter Genauigkeit bestimmbar sind. Tl und größere Mengen Cd stören und müssen vorher abgetrennt werden.

Kleinere Mengen Cd sind ähnlich wie in NH_4Cl-Lösung ohne Einfluß auf die Pb-Spitzen (siehe Abb. 10).

Abb. 12 zeigt die Spitzenströme, die mit verschiedenen Bleikonzentrationen erhalten wurden.

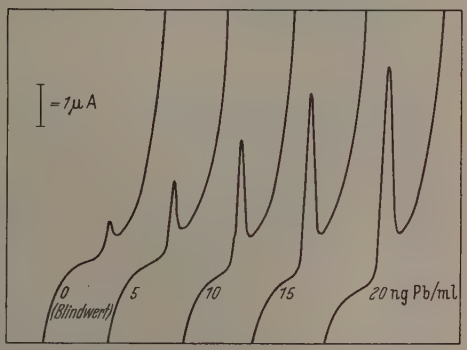

Abb. 12. Voltammetrische Bestimmung des Bleis in 0,02 m NaCl-Lösung

Wismut

Wismut gibt in Grundlösungen, in denen es polarographisch gut zu bestimmen ist, auch brauchbare voltammetrische Spitzenströme, obwohl die anodischen Auflösungspotentiale wesentlich positiver sind als die entsprechenden Halbstufenpotentiale. Die Spitzen kleiner Wismutmengen liegen oft schon im Endanstieg der Grundlösung und sind daher schlecht zu bestimmen. Alle Grundlösungen sind zur Bestimmung neben nicht zu großen Mengen von Pb, Cd und Tl brauchbar.

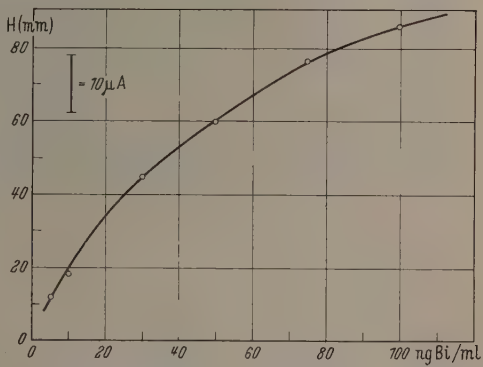

Abb. 13. Eichkurve zur Wismutbestimmung in 0,1 m KNa-Tartratlösung. $T_E = 20$ min; $V_E = 1{,}75$ V; Galv. empf. = 10

Die Bestimmung des Wismuts in neutraler 0,1 m NaK-Tartratlösung

Man wählt möglichst lange Elektrolysezeiten, um große Spitzenströme zu erhalten, damit die Trennung vom Grundstromanstieg besser wird. Gleichfalls sind niedrigere Elektrolysespannungen besser geeignet; bewährt hat sich z. B. $V_E = -1{,}75$ V. Allerdings muß dann diese Spannung sorgfältig eingehalten werden, da in diesem Bereich die Spitzenhöhe von der Elektrolysespannung noch abhängig ist.

Arbeitsbedingungen (für 5—100 ng Bi). $V_E = -1{,}75$ V; $T_E = 30$ min; Galvanometerempfindlichkeit $= {}^1/_{10}$.

Die Eichkurve (Abb. 13) verläuft nicht geradlinig, da die Höhe der Spitzen stets gegen den Grundstrom zu Beginn der Spitze ermittelt wurde und besonders bei kleinen Wismutmengen infolge des stark ansteigenden Grundstroms nicht dem wahren Wert entspricht.

Beleganalysen für Mengen von 5—100 ng Wismut/ml gibt Tab. 4 (1 ml-Zelle).

Abb. 14 zeigt den Verlauf der Stromspannungskurven für den gleichen Konzentrationsbereich.

Störungen. Nicht abgeschieden werden außer den schwer reduzierbaren Kationen (Al, Mg, usw.) noch folgende Elemente: Cd, In und Sn^{II}, sie dürften daher auf die Bestimmung des Wismuts ohne Einfluß sein. Kupfer und Silber werden abgeschieden, stören aber kaum, da sie bei positiveren Potentialen als Wismut aufgelöst werden. Lediglich größere Mengen von Kupfer erschweren die Auswertung der Wismutspitze.

Tabelle 4. *Beleganalysen zur voltammetrischen Bestimmung des Wismuts in 0,1 m NaK-Tartratlösung*

gegeben ng Bi/ml	gefunden ng Bi/ml	Abweichung	Fehler %
5,0	5,7	+0,7	+14,0
10,0	9,0	−1,0	−10,0
10,0	9,0	−1,0	−10,0
10,0	10,8	+0,8	+ 8,0
20,0	21,5	+1,5	+ 7,5
30,0	29,3	0,7	− 2,3
30,0	30,5	+0,5	+ 1,6
50,0	50,0	±0	± 0
50,0	51,5	+1,5	+ 3,0
50,0	48,6	−1,4	− 2,8
75,0	80,0	+5,0	+ 6,7
75,0	73,0	−2,0	− 2,7
100,0	100,0	±0	± 0
100,0	102,5	+2,5	+ 2,5

Tabelle 5. *Bestimmung des Wismuts neben Blei und Thallium*

gegeben ng Bi/ml	gefunden ng Bi/ml	Abweichung	Zusätze/ml
30,0	29,1	−0,9	70 ng Pb
20,0	23,3	+3,3	100 ng Pb
20,0	18,4	−1,6	100 ng Tl
30,0	33,1	+3,1	150 ng Tl
30,0	32,4	+2,4	150 ng Tl
20,0	20,0	±0	je 50 ng Pb
20,0	23,0	+3,0	+ 50 ng Tl

Antimon gibt eine breite Stromspitze, die die Wismutbestimmung stört. Blei und Thallium geben Spitzen, die vor der des Wismuts liegen. Die

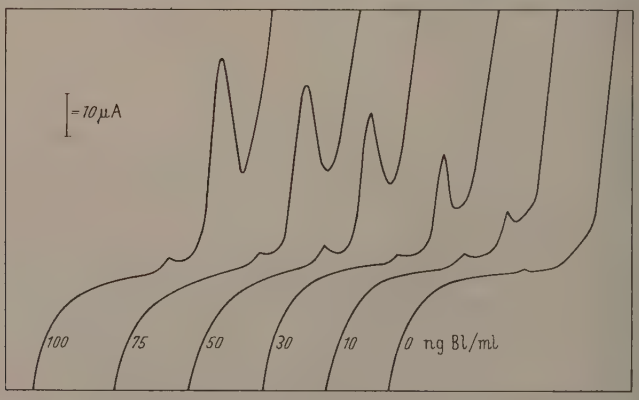

Abb. 14. Voltammetrische Bestimmung des Wismuts in 0,1 m Tartratlösung

Bestimmung des Wismuts neben der 3—5fachen Menge an diesen Elementen ist aber ohne weiteres möglich, wie die Werte der Tab. 5 zeigen.

Thallium

Thallium läßt sich in fast allen Grundlösungen zwischen $-0{,}9$ und $-1{,}3$ V abscheiden. Bei höheren Elektrolysespannungen nimmt die Stufenhöhe wieder ab.

Zur Bestimmung sind vor allem Lösungen mit starken Komplexbildnern wie Citrat, Tartrat und ÄDTA geeignet, da in diesen Lösungen alle übrigen Elemente erst bei wesentlich höheren Spannungen abgeschieden werden und eine Bestimmung des Thalliums neben anderen Elementen daher ohne Trennung möglich wird. Eine direkte Bestimmung geringster Mengen von Tl in verschiedenen Materialien ist deshalb oft ohne weiteres möglich. Da sich andererseits Tl leicht vollständig und spezifisch abtrennen läßt (Extraktion als Bromid, Verdampfungsanalyse), ist in Verbindung mit diesen Trennungsverfahren die Bestimmung in allen Materialien möglich, worüber später berichtet wird.

Tabelle 6. *Beleganalysen zur voltammetrischen Bestimmung des Thalliums (20—200 ng)*

gegeben ng Tl/ml	gefunden ng Tl/ml	Abweichung	Fehler %
22,8	22,5	−0,3	−1,3
22,8	25,0	+1,2	+5,3
57,0	58,0	+1,0	+1,8
57,0	54,0	−3,0	−5,2
57,0	60,5	+3,5	+6,1
114,0	113,0	−1,0	−0,9
114,0	115,0	+1,0	+0,9
171,0	170,0	−1,0	−0,6
171,0	170,0	−1,0	−0,6
228,0	225,0	−3,0	−1,3
228,0	233,0	+5,0	+2,2

Arbeitsvorschrift zur voltammetrischen Bestimmung des Thalliums

Als Grundlösung wurde eine 0,02 m ÄDTA-Lösung gewählt. Die günstigste Elektrolysespannung beträgt für Thallium in dieser Lösung $-1{,}1$ bis $-1{,}2$ V. Mit entsprechenden Elektrolysezeiten und Galvanometerempfindlichkeiten lassen sich die verschiedensten Tl-Mengen bestimmen.

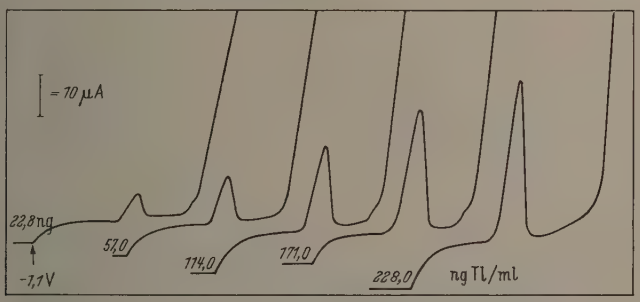

Abb. 15. Voltammetrische Bestimmung des Thalliums in 0,02 m ÄDTA-Lösung

In der 1 ml-Zelle haben sich folgende Bedingungen bewährt:

a) Bestimmung von 20—200 ng Tl. Als Elektrolysezeit sind 10 min günstig bei $^1/_{10}$ der Galvanometerempfindlichkeit.

Belege, die nach dieser Arbeitsvorschrift erhalten worden sind, gibt Tab. 6, die zugehörigen Stromspitzen zeigt Abb. 15.

b) Bestimmung von 0,5—10 ng Tl. Da die Grundlösung keinen merklichen Blindwert hat, läßt sich die volle Empfindlichkeit der Methode ausnützen. Elektrolysiert man bei voller Galvanometerempfindlichkeit 30 min, so erhält man mit 0,5 ng Tl noch eine deutliche Spitze (siehe Abb. 16).

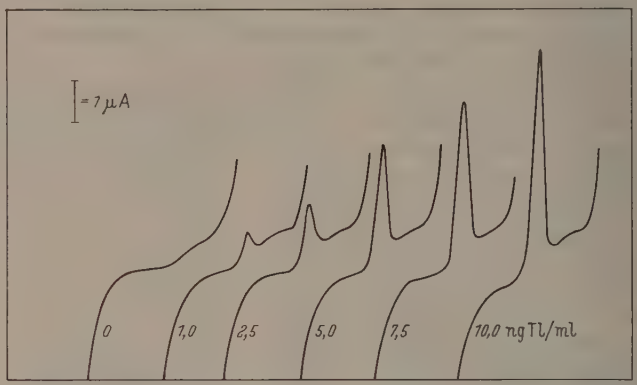

Abb. 16. Voltammetrische Bestimmung des Thalliums in 0,02 m ÄDTA-Lösung

Eine Eichkurve für diese Mengen gibt Abb. 17, die Meßpunkte sind Mittelwerte aus je 2—3 Bestimmungen, Tab. 7 enthält einige zugehörige Beleganalysen.

Der mittlere Fehler liegt bei etwa $\pm 5\%$; bei kleineren Tl-Mengen ist die Bestimmung naturgemäß weniger genau.

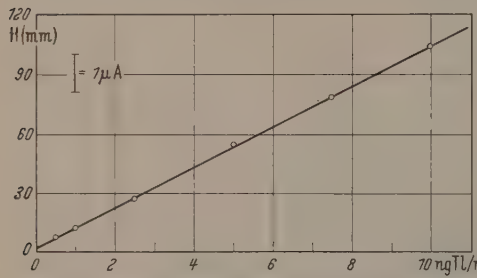

Abb. 17. Eichkurve zur voltammetrischen Thalliumbestimmung. 1 ml-Zelle; $V_E = -1{,}1$ V; $T_E = 30$ min; R 10/C 8; $E = 1$; Grundlösung: 0,02 m ÄDTA

Die Bestimmung des Thalliums neben Neutralsalzen und neben anderen Elementen

Die meisten Elemente werden in ÄDTA-Lösung überhaupt nicht oder erst bei sehr hohen negativen Spannungen reduziert (siehe oben), so daß die Bestimmung des Thalliums praktisch nicht gestört wird. Größere Mengen Antimon erniedrigen die Thalliumspitzen erheblich (siehe Tab. 8). Neben viel Wismut tritt eine Veränderung der Thalliumspitze in der Weise auf, daß bei unveränderter Spitzenhöhe der Grundstrom auch am Ende der Spitze wieder fast auf Null absinkt und so eine sehr gut aus-

gebildete Thalliumspitze entsteht*. Liegen größere Mengen von Blei vor, so muß man sehr genau auf V_E achten, da eine geringe Bleiabscheidung schon bei −1,2 V einsetzt.

Tabelle 7. *Beleganalysen zur voltammetrischen Bestimmung des Thalliums (0,5—10 ng Tl)*

gegeben ng Tl	gefunden ng Tl	Abweichung	Fehler %	gegeben ng Tl	gefunden ng Tl	Abweichung	Fehler %
10,0	10,4	+0,4	+ 4,0	5,0	$5{,}3_5$	+0,35	+ 7,0
10,0	9,8	−0,2	− 2,0	5,0	5,3	+0,3	+ 6,0
10,0	10,5	+0,5	+ 5,0	5,0	5,2	+0,2	+ 4,0
10,0	10,0	±0	± 0	2,5	2,5	±0	± 0
10,0	10,0	±0	± 0	2,5	$2{,}6_5$	+0,15	+ 6,0
10,0	9,9	−0,1	− 1,0	2,5	2,5	±0,0	± 0,0
10,0	9,5	−0,5	− 5,0	2,5	2,3	−0,2	− 8,0
7,5	$7{,}4_5$	−0,05	− 0,7	1,0	0,9	−0,1	−10,0
7,5	7,5	±0	± 0	1,0	1,1	+0,1	+10,0
7,5	7,5	±0	± 0	1,0	1,1	+0,1	+10,0
7,5	7,8	+0,3	+ 4,0	0,5	0,4	−0,1	−20,0
5,0	5,0	±0	± 0	0,5	$0{,}6_5$	+0,15	+30,0
5,0	4,8	−0,2	− 4,0				

Tabelle 8. *Die Bestimmung des Thalliums neben Neutralsalzen und anderen Elementen*

gegeben ng Tl/ml	gefunden ng Tl/ml	Abweichung	Zusätze (µg/ml)
2,5	2,8	+0,3	23900 Na_2SO_4* + 8400 $MgCl_2$
5,0	5,0	±0	82000 NaCl
5,0	5,5	+0,5	21000 NaCl + 15700 $Ca(NO_3)_2$
5,0	5,2**	+0,2	30000 $Be(NO_3)_2$
5,0	4,8	−0,2	42000 $Mg(ClO_4)_2$
5,0	4,7	−0,3	50000 $Al(NO_3)_3$
5,0	5,2	+0,2	5 Cu
5,0	5,0	±0	80 Cu
5,0	4,0	−1,0	10 Sb
5,0	5,3	+0,3	10 Mo
1,0	1,1	+0,1	100 Zn — 10 Cd — 1 Bi — 5 In — 2 Ag — 10 Pb
1,0	0,9	−0,1	100 Zn — 10 Cd — 1 Bi — 5 In — 2 Ag — 10 Pb
1,0	1,2	+0,2	100 Zn — 10 Cd — 1 Bi — 5 In — 2 Ag — 10 Pb
2,5	2,4	−0,1	2 Ag — 2 Bi — 5 Sn^{II} — 100 Zn — 10 Cd — 10 Pb — 1 Sb — 1 In
5,0	5,6	+0,6	5 Ag — 2 Bi — 5 Sn^{II} — 70 Zn — 20 Cd — 100 Pb — 2 Sb — 5 In
7,5	7,8	+0,3	5 Ag — 1 Bi — 20 Sn^{II} — 150 Zn — 50 Cd — 20 Pb — 10 In

* Alle Salze mit normalem Kristallwasser.

** Unter Berücksichtigung des Blindwertes des Be-Nitrats.

Neutralsalze mit verschiedenen Anionen sind ebenfalls ohne Einfluß auf die Bestimmung des Thalliums (Tab. 8). Reagiert die Lösung sauer

* Ähnliches wurde auch bei der Abscheidung des Wismuts neben Blei und Thallium beobachtet. Die Anwesenheit mehrerer Elemente im Amalgam ist offenbar auf die Gestalt der Stromspannungskurve von Einfluß.

infolge der hydrolytischen Spaltung des Salzes, so scheidet sich die freie Äthylendiamintetraessigsäure ab. Durch vorsichtigen Zusatz von Natronlauge bringt man die Lösung auf p_H 4—5 und kann dann die Bestimmung ausführen.

Tab. 8 gibt einige Belege zur Bestimmung des Thalliums neben Neutralsalzen und anderen Elementen. Die Werte zeigen, daß die Fehlerbreite der Bestimmung nicht wesentlich größer als in reinen Tl-Lösungen ist. Die Bestimmung des Thalliums in einer Reihe löslicher Verbindungen oder in Mischungen, wie man sie z. B. bei der Verdampfung im H_2-Strom erhält, dürfte also ohne weiteres möglich sein.

Die Bestimmung des Thalliums in reinen Salzen

Die Empfindlichkeit der voltammetrischen Thalliumbestimmung (0,5 ng/ml) erlaubt die Bestimmung des Thalliums in zahlreichen Salzen, wobei die Bestimmungsgrenze in 2—5%igen Salzlösungen bei 2,5 bis $1{,}0 \cdot 10^{-6}$ % Tl liegt. Im Gegensatz zu allen anderen Methoden der Thalliumanalyse lassen sich jetzt diese niedrigen Konzentrationen direkt nach Auflösung der Probe ohne weitere Anreicherung des Thalliums bestimmen. Die Ergebnisse der Analyse einiger reiner (meist p. a.) Salze gibt Tab. 9.

Tabelle 9
Die Bestimmung des Thalliums in reinen Salzen

Probe	Einwaage mg/10 ml	gefunden ng Tl/ml	Tl %
$BeSO_4 \cdot aq$.	350,0	6,4	$1{,}83 \cdot 10^{-5}$
$Be(NO_3)_2 \cdot aq(I)$	500,0	5,5	$1{,}10 \cdot 10^{-5}$
LiCl . . .	310,0	2,6	$8{,}40 \cdot 10^{-6}$
KCl . . .	116,0	9,7	$8{,}36 \cdot 10^{-5}$
$KBrO_3$ . . .	950,0	$<0{,}5$	$< 6 \cdot 10^{-7}$
K_2SO_4 . . .	190,0	0,4	$2{,}4 \cdot 10^{-6}$
RbCl	162,0	19,6	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$
CsCl	222,0	49,0	$2{,}2 \cdot 10^{-4}$

Der Thalliumgehalt der Kaliumsalze ist also erheblich vom Anion abhängig. Rubidium-, Cäsium- und Lithiumsalze zeigen ebenso meist beträchtliche Thalliumgehalte. Berylliumsalze, im Gegensatz zu Magnesium- und Aluminiumsalzen, haben ebenfalls einen merklichen Thalliumgehalt (siehe dazu Thallium in Beryllen[8]).

Zusammenfassung

Die nach der elektrolytischen Abscheidung von Metallen an amalgamierten Pt-Elektroden bei schneller Wiederauflösung der Amalgame entstehenden Stromspitzen sind zur Bestimmung sehr geringer Metallmengen in der praktischen Analyse geeignet. Die Grundlagen des Arbeitsverfahrens sowie die Bestimmung von Pb, Cd, Bi und Tl werden beschrieben.

Herrn Prof. Dr. Geilmann danke ich für die Unterstützung der vorliegenden Arbeit, Herrn Prof. Dr. F. Strassmann für die Bereitstellung von Institutsmitteln.

Literatur

[1] Barker, G. C., u. J. L. Jenkins: Analyst **78**, 685 (1952); vgl. diese Z. **140**, 45 (1953). — [2] DeMars, R. D., u. I. Shain: Analyt. Chemistry **29**, 1825 (1957); vgl. diese Z. **163**, 290 (1958). — [3] Gardiner, K. W., u. L. B. Rogers: Analyt. Chemistry **25**, 1393 (1953); vgl. diese Z. **143**, 437 (1954). — [4] Iwantscheff, G.: Das Dithizon und seine Anwendung in der Mikro- und Spurenanalyse, 1954. — [5] Kalvoda, R.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 132 (1958); vgl. diese Z. **165**, 129 (1959). — [6] Kolthoff, I. M., u. J. J. Lingane: Polarography I (1952), 144. — [7] Mamantov, G., P. Papoff u. P. Delahay: J. Amer. chem. Soc. **79**, 4034 (1957). — [8] Neeb, K. H.: Diss. Mainz 1957. — [9] Nikelly, J. G., u. W. D. Cooke: Analyt. Chemistry **29**, 933 (1957); vgl. diese Z. **161**, 197 (1958). — [10] Randles, J. E. B.: Analyst **72**, 301, 304 (1947). — [11] Schwarz, K.: diese Z. **115**, 161 (1938/39). — [12] Ševčik, A.: Collect. czechoslov. chem. Commun. **13**, 349 (1948). — [13] Snowden, F. C., u. H. T. Page: Analyt. Chemistry **22**, 969 (1950); vgl. diese Z. **132**, 374 (1951). — [14] von Sturm, F.: J. Polarogr. Soc. **1958**, 28.

Priv.-Doz. Dr. Rolf Neeb, Mainz, Anorg. chem. Inst. der Universität

---

Aus dem Institut für Anorganische und Allgemeine Chemie
der Technischen Hochschule Wien

Polarographische Untersuchungen in wasserfreiem Dimethylsulfoxyd*

I. Mitteilung

Von
V. Gutmann und G. Schöber

(Eingegangen am 11. Juni 1959)

A. Allgemeines

Im Zuge der polarographischen Untersuchungen in nichtwäßrigen Lösungen[5] erwies sich Dimethylsulfoxyd als besonders geeignetes Lösungsmittel. Es kann durch einfache Destillation in einer für polarographische Zwecke ausreichenden Reinheit erhalten werden. Wie im folgenden gezeigt wird, können in seinen Lösungen zahlreiche Ionen polarographisch erfaßt werden, die in Wasser und zum Teil auch in anderen nichtwäßrigen Lösungsmitteln nicht oder nur schlecht polarographiert werden können.

Infolge Fehlens von aktivem Wasserstoff steht bei Verwendung von Tetraäthylammoniumnitrat als Leitsalz ein Spannungsbereich von $-0{,}2$ V bis $-2{,}74$ V zur Verfügung.

Da im Rahmen der laufenden polarographischen Untersuchungen systematische Meßreihen zur Ausarbeitung analytischer Vorschriften

* Herrn Professor Dr. Robert Klement zum 60. Geburtstag gewidmet.

nicht unternommen werden, mögen folgende Beobachtungen als Hinweise in dieser Richtung dienen.

Ähnlich wie in Wasser werden gut vermeßbare Polarogramme vor allem bei Depolarisatorkonzentrationen in der Größenordnung von Millimolen im Liter erhalten. Die Gültigkeit der Ilkovič-Gleichung wurde beim Titan gezeigt.

Als Grundlösung haben wir bei den bisherigen Untersuchungen eine 0,1 m Tetraäthylammoniumnitratlösung verwendet. Orientierende Versuche zeigen auch die Verwendbarkeit einer 0,1 m Tetraäthylammoniumperchloratlösung, welche ein nicht reduzierbares Anion enthält.

Polarographische Maxima werden außerordentlich selten beobachtet, was mit der relativ hohen Viscosität des Solvens in Zusammenhang stehen dürfte. Ihre teilweise Eliminierung ist in manchen Fällen schon durch Variation der Tropfgeschwindigkeit möglich.

B. Einzelbesprechung der Ionen

In der Tabelle sind die Richtwerte der gut vermeßbaren Halbwellenpotentiale einiger Ionen in Dimehylsulfoxyd-Grundlösung enthalten.

Quantitative Löslichkeitsangaben in Dimethylsulfoxyd liegen nicht vor, doch hat sich gezeigt, daß vor allem Nitrate und Perchlorate besonders gut löslich sind. Ferner sind vielfach auch Halogenide und in einigen Fällen Sulfate löslich.

Die polarographische Bestimmung der Alkaliionen ist in rein wäßriger Lösung mit Schwierigkeiten verbunden[14,23]; bessere Ergebnisse werden in Alkohol-Wassergemischen erhalten.[17,23] In Dimethylsulfoxyd-Grundlösung ergeben die Alkaliionen durchwegs gut vermeßbare Stufen, welche zur Bestimmung herangezogen werden können; dabei ist es günstig, Tropfzeiten von etwa 8—10 sec einzustellen. Ähnlich wie in Wasser ist Lithium das am schwersten abscheidbare anorganische Kation; es kann infolge seines stark negativen Halbwellenpotentials (Tabelle) auch neben den anderen Alkaliionen bestimmt werden. Natrium und Kalium geben ebenfalls gute Polarogramme, sind aber auf normalem polarographischem Wege nicht zu trennen. Hingegen ist es möglich, diese beiden Ionen mittels Ableitungspolarographie nebeneinander getrennt zu erfassen. Auch Rubidium und Cäsium können derivativ erfaßt werden. Das Ammoniumion gibt eine steile Stufe mit sehr unruhigem Grenzstrom.

Beryllium kann bekanntlich in wäßrigen Lösungen nicht bestimmt werden[8,10]. Hingegen ist in Dimethylsulfoxyd eine Welle aufgefunden worden, die allerdings ungenau vermeßbar ist. Wegen des ähnlichen Halbwellenpotentials des Zinks, kann Beryllium bei dessen Anwesenheit nur auf derivativem Wege erfaßt werden.

Magnesium, das in Wasser nur indirekt bestimmt werden kann, ergibt in Dimethylsulfoxyd eine gut vermeßbare Stufe bei $-2{,}28$ V. Seine

Erfassung neben Alkaliionen, speziell Lithium, ist in Dimethylsulfoxyd mittels Derivativpolarographie möglich.

Auch Calcium gibt eine Welle ohne Maximum und kann schon auf normalem polarographischem Wege von Alkaliionen getrennt erfaßt werden.

Tabelle. *Halbwellenpotentiale in wasserfreiem Dimethylsulfoxyd*
Gemessen bei 21°C gegen eine gesättigte wäßrige Kalomelelektrode

Ion	gelöst als	Halbwellenpotentiale		
		1. Welle	2. Welle	3. Welle
Li	LiCl	— 2,45 V	—	—
NH_4^+	NH_4NO_3	— 2,13 V	—	—
K^+	$KClO_4$	— 2,11 V	—	—
Na^+	$NaClO_4$	— 2,07 V	—	—
Rb^+	RbCl	— 2,06 V	—	—
Cs^+	CsCl	— 2,03 V	—	—
Sr^{2+}	$Sr(NO_3)_2$	— 2,10 V	—	—
Ba^{2+}	$BaCl_2$	— 2,09 V	—	—
Mg^{2+}	$Mg(ClO_4)_2$	— 2,28 V	—	—
Ca^{2+}	$Ca(NO_3)_2$	— 2,30 V	—	—
Sb^{3+}	SbJ_3	— 0,36 V	— 0,52 V	— 1,13 V
Zr^{4+}	$ZrCl_4$	— 1,04 V	—	—
Hf^{4+}	$HfCl_4$	— 1,07 V	— 1,17 V	—
Ti^{4+}	$(C_5H_5)_2TiCl_2$	— 1,21 V	—	—
Nb^{5+}	$NbCl_5$	— 0,92 V	—	—
Si^{4+}	$SiCl_4$	— 0,52 V	— 1,09 V	—

Siliciumverbindungen, wie Organochlorosilane oder Siliciumhalogenide, wurden bisher nur in wasserfreiem Pyridin[1] polarographiert, da sie in protonenhaltigen Lösungsmitteln solvolysiert werden. In Dimethylsulfoxyd wurden nun von Siliciumtetrachloridsolvat[7] zwei Wellen unterschiedlicher Steilheit gefunden, welche annähernd gleich hoch und gut ausgebildet sind.

Zirkonium und Hafnium geben in Dimethylsulfoxyd gut ausgebildete Stufen, welche allerdings je ein kleines Maximum erster Ordnung aufweisen. Mittels Ableitungspolarographie ist eine gleichzeitige Erfassung beider Ionen möglich, was in Wasser bisher nicht gelungen ist[11,12].

Titan ist in Wasser nur schwierig erfaßbar[3,4,20,22]. In Dimethylsulfoxyd erhält man hingegen ausgezeichnete Polarogramme, welche eine gute Ausmessung ermöglichen. Der Grenzstrom ist vollkommen stetig, sofern man mit einer Tropfzeit zwischen 7 und 8 sec arbeitet. Die Derivativpolarogramme zeigen drei allerdings undeutliche Spitzen, wodurch die Vermutung naheliegt, daß die Reduktion entsprechend $Ti^{IV} \rightarrow Ti^{III} \rightarrow Ti^{II} \rightarrow Ti^{0}$ erfolgt.

Niob, dessen polarographisches Verhalten in Wasser eingehend studiert wurde[19,22], gibt in Dimethylsulfoxyd eine sehr gut vermeßbare

Welle; da in Dimethylsulfoxyd auch Nioboxychlorid löslich ist, kann Niob auch in dieser Verbindung bestimmt werden.

Ferner sei auf eine Möglichkeit der Wasserbestimmung in Dimethylsulfoxyd hingewiesen: nach der Welle des Zirkoniums erhält man eine katalytische Wasserstoffwelle, deren Höhe nach orientierenden Versuchen proportional der Wasserkonzentration zu sein scheint.

Vorläufige Untersuchungen von Phosphoroxychlorid in Dimethylsulfoxyd ergeben eine Welle, welche jedoch durch eine katalytische Wasserstoffwelle (offenbar enthielt $POCl_3$ Chlorwasserstoff) weitgehend überlagert wird. Lösungen von Antimon(III)-jodid ergeben mehrere Wellen, welche im Gegensatz zu wäßrigen Lösungen[9,13,15] auch ohne Dämpfer ausgezeichnet vermeßbar sind. Allerdings kann noch keine Deutung dieser Wellen gegeben werden.

Versuche, schlechter vermeßbare Kurven durch Änderung des Leitsalzes, Konzentrationsbereiches, Tropfgeschwindigkeit und eventuelle Dämpferzugabe zu glätten, sind augenblicklich im Gange. Darüber hinaus wird auch das polarographische Verhalten einer Reihe von anderen Ionen in Dimethylsulfoxyd studiert.

Da in Fällen, in denen ein Ion entweder durch Ausfällen, Komplexbildung oder Wertigkeitsänderung aus dem Gleichgewicht entfernt wird, eine polarometrische Titration möglich ist, werden Versuche zur Schnellbestimmung diverser Ionen unternommen.

C. Experimenteller Teil

Das technische Dimethylsulfoxyd wurde durch dreimalige fraktionierte Destillation im Vakuum (12 Torr) unter Verwendung einer 50 cm hohen Füllkörperkolonne gereinigt. Es erwies sich als unmöglich, Dimethylsulfoxyd über P_2O_5 oder Natrium zu destillieren, da in diesem Falle ab etwa 60° C Zersetzung des Solvens eintritt. Die bei 81° C übergehende Fraktion wurde gesammelt und erstarrte zum größten Teil bei etwa 18° C. Die noch verbleibende Flüssigkeit wurde verworfen. Die spezifische Leitfähigkeit des gereinigten Lösungsmittels betrug $4{,}5 \cdot 10^{-7}\,\Omega^{-1}\,cm^{-1}$ bei 21° C. Diese Reinheit ist für polarographische Zwecke ausreichend, obwohl Dimethylsulfoxyd mit einer um eine Zehnerpotenz niederen Leitfähigkeit bekannt ist[16]. Durch 1stündiges Stehen der Lösung an der Luft werden die polarographischen Ergebnisse nicht beeinflußt.

Als Leitsalz wurde $[(C_2H_5)_4N]NO_3$ verwendet, welches sich in Dimethylsulfoxyd ausgezeichnet löst. Tetraäthylammoniumnitrat wurde nach Tucker u. Kraus[21] durch Neutralisation der freien Base mit analysenreiner Salpetersäure unter Verwendung von Methylrot als Indicator dargestellt. Die Kristalle wurden 3mal mit chromatographisch reinem, wasserfreiem Aceton im Soxhlet extrahiert und 24 Std über P_2O_5 getrocknet.

Die polarographischen Messungen wurden mit einem PO 4-Gerät der Firma Radiometer, Kopenhagen, die Leitfähigkeitsmessungen mit einer Philips-Brücke bei 1000 Hertz ausgeführt. Als Elektrolysensystem wurde die von Gutmann u. Schöber[6] beschriebene Anordnung verwendet. Die Darstellung der verwendeten Substanzen bzw. ihre Reinigung und Entwässerung sind bereits beschrieben worden[6,18].

Um den auch in Dimethylsulfoxyd polarographisch aktiven Sauerstoff zu entfernen wurde vor jeder Messung 20 min Reinstickstoff durch die Probelösung geleitet.

Zusammenfassung

Es wird über einige analytisch interessante Versuchsergebnisse von polarographischen Untersuchungen in wasserfreiem Dimethylsulfoxyd berichtet.

Literatur

[1] Abrahamson, E. A., u. C. A. Reynolds: Analyt. Chemistry **24**, 1827 (1952); vgl. diese Z. **140**, 278 (1953). — [2] Abresch, K.: Angew. Chem. **48**, 683 (1935); vgl. diese Z. **107**, 426 (1936). — [3] Esin, O.: Acta Physicochem. U.d.S.S.R. **13**, 429 (1940). — [4] Forbes, G. S., u. L. P. Hall: J. Amer. chem. Soc. **46**, 385 (1924). — [5] Gutmann, V., u. G. Schöber: Angew. Chem. **70**, 98 (1958); vgl. diese Z. **165**, 129 (1959). — [6] Gutmann, V., u. G. Schöber: Mh. Chem. **88**, 206 (1957). — [7] Gutmann, V., u. K. Utvary: Unveröffentlicht. — [8] Heyrovsky, J., u. S. Berezicky: Collect. czechoslov. chem. Commun. **1**, 19 (1920). — [9] Kacirkova, K.: Collect. czechoslov. chem. Commun. **1**, 477 (1929). — [10] Kemula, W., u. M. Michalski: Collect. czechoslov. chem. Commun. **5**, 436 (1933); vgl. diese Z. **106**, 53 (1936). — [11] Latimer, W. M.: „Oxydation Potentials", Prentice Hall, New York 1938. — [12] Laubengayer, A. W., u. R. B. Eaton: J. Amer. chem. Soc. **62**, 2704 (1940). — [13] Lingane, J. J.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **15**, 585 (1943). — [14] Majer, V.: diese Z. **92**, 321 (1933). — [15] Page, J. E., u. F. A. Robinson: J. Soc. chem. Ind. **61**, 93 (1942). — [16] Schläfer, H. L.: Private Mitteilung. — [17] Schöber, G., u. V. Gutmann: Mikrochim. Acta **3**, 319 (1958); vgl. diese Z. **166**, 132 (1959). — [18] Schöber, G., u. V. Gutmann: Mh. Chem. **89**, 401 (1958). — [19] Stromberg, A. G., u. L. M. Reinus: J. phys. Chem. U.d.S.S.R. **20**, 693 (1946). — [20] Strubl, R.: Collect. czechoslov. chem. Commun. **10**, 475 (1938). — [21] Tucker, L. M., u. C. A. Kraus: J. Amer. chem. Soc. **69**, 454 (1947). — [22] Zeltzer, S.: Collect. czechoslov. chem. Commun. **4**, 319 (1932); vgl. diese Z. **96**, 205 (1934). — [23] Zlotowski, I., u. I. M. Kolthoff: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **14**, 473 (1942); vgl. diese Z. **129**, 269 (1949).

Prof. Dr. V. Gutmann u. Dr. G. Schöber, Wien VI., Getreidemarkt 9, Inst. f. Anorg. u. Allgem. Chemie der Technischen Hochschule

---

Aus dem Chemischen Institut der Universität Marburg/Lahn

Titrationsverfahren mittels Redoxverschiebung

I. Die maßanalytische Kupferbestimmung mit Eisen(II)-sulfat*

Von

C. Mahr und B. Seeger**

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. September 1959)

Die Veränderung des Potentiales eines Redoxsystems durch komplexe Bindung eines der Ionen, die das System bestimmen, ist in der Maßanalyse bisher im wesentlichen nur als Hilfsmittel benutzt worden, um

* Herrn Prof. Dr. R. Klement zum 60. Geburtstag gewidmet.

** Aus der Dissertation B. Seeger, Marburg 1959.

unerwünschte Nebenreaktionen auszuschalten. Ein Beispiel ist die jodometrische Kupferbestimmung in Gegenwart von Eisen, bei der die störende Jodausscheidung durch das Eisen(III)-ion durch Zusatz von Fluorid oder Phosphat unterdrückt wird, ein anderes der Phosphatzusatz bei der Titration von Chromat mit Eisen(II)-sulfat, um die vorzeitige Oxydation des Redoxindicators durch das entstehende Eisen(III) zu verhindern. Die Einführung der starken organischen Komplexbildner schuf neue Möglichkeiten der Potentialverschiebung von solchen Redoxsystemen, an denen Ionen eines Metalls in verschiedener Wertigkeitsstufe beteiligt sind. Infolgedessen treten nunmehr auch Vorschläge auf, die starke Erhöhung der Reduktionswirkung des Eisen(II)-sulfates durch komplexe Bindung der vorhandenen und der entstehenden Eisen(III)-ionen für Titrationsverfahren auszunutzen. R. Přibil, J. Doležal u. V. Simon[8] schlugen bereits 1953 vor, zur Reduktion des Silberions Eisen(II)-sulfat zu verwenden, dessen reduzierende Wirkung durch Zusatz von Äthylendiamintetraacetat (ÄDTA) verstärkt war. Neuerdings benutzen auch L. Erdey u. K. Vigh[3] Eisen(II)-sulfat zur maßanalytischen Bestimmung des Silbers, wobei sie Fluorid als komplexbildenden Zusatz verwenden. Zu dieser Zeit waren bereits von uns Untersuchungen begonnen worden, die ebenfalls Eisen(II)-sulfat in Gegenwart von Fluorid als Titrationsmittel verwendeten und denen folgender allgemeine Gedankengang zugrunde lag:

Die in der Maßanalyse benutzten, stark reduzierenden Lösungen, wie $SnCl_2$ oder $TiCl_3$, haben den grundsätzlichen Nachteil, daß sie auch mit dem Luftsauerstoff reagieren. Daher müssen bei der Aufbewahrung dieser Lösungen erhebliche Unbequemlichkeiten in Kauf genommen werden und eine häufige Titerkontrolle ist unerläßlich. Viel vorteilhafter wäre es, eine praktisch nicht reduzierende Titerlösung zu verwenden, die deshalb nicht vom Luftsauerstoff oxydiert werden kann. Erst während der Titration sollte der Titrator durch den Komplexbildner, der dem Titrand zugesetzt wird, so stark reduzierend werden, daß nunmehr die beabsichtigte Umsetzung eintritt. Über einige Titrationen, die wir nach diesem Prinzip durchführten, wurde bereits kurz berichtet[7]. Im folgenden werden die Arbeitsvorschriften über das erste dieser neuen Verfahren mitgeteilt, nämlich die Reduktion von Kupfer(II) und von Jod durch $FeSO_4$ in Gegenwart von Fluorid.

Die bei diesen Verfahren verwendete salzsäurehaltige Eisen(II)-sulfatlösung entspricht zwar nicht ganz der oben aufgestellten Forderung absoluter Luftbeständigkeit, sie ist aber trotzdem ein sehr bequemes Titriermittel, da sie in ihrem Titer durch einen Silbereduktor nach H. G. Walden, L. P. Hammet u. S. M. Edmonds[9] leicht vollkommen konstant gehalten werden kann. Für die Wahl des Komplexbildners gelten folgende Gesichtspunkte: Nach den von R. Bock u. M. Herrmann[1]

an Eisen(III)/Eisen(II)-salzlösungen nach Zusatz von Komplexbildnern gemessenen Realpotentialen kommen verschiedene Substanzen in Frage, durch deren Zusatz man mit einer $FeSO_4$-Lösung die Reduktion des Kupfers bis zum Metall erwarten sollte. Voraussetzung ist jedoch, daß das zugesetzte Ion nicht auch das Kupfer komplex bindet und damit auch dessen Redoxpotential verschiebt. So reduziert z. B. eine mit ÄDTA versetzte $FeSO_4$-Lösung das Kupfersalz nicht bis zum Metall, weil dieses Komplexierungsmittel auch das Kupferion bindet. Daher ist für die Reduktion von Metallionen durch $FeSO_4$ das Fluorid kaum durch andere Liganden zu ersetzen, weil Fluorid für Eisen(III) ein Komplexbildner hoher Selektivität ist.

Für die Stöchiometrie des Umsatzes zwischen Cu^{2+} und Fe^{2+} ist es wesentlich, ob die Reduktion bis zum Metall gehen kann oder ob das Kupfer auf der Cu^{+}-Stufe abgefangen wird. Für den Umrechnungsfaktor wäre die an sich mögliche Reduktion bis zum Metall vorteilhafter gewesen. Im Laufe unserer Untersuchungen erwies es sich jedoch als zweckmäßig, die Reduktion nur bis zum Cu(I) vorzunehmen, weil diese Reduktion als Austausch nur eines Elektrons weniger gehemmt ist[5]. Für die Festlegung der Cu(I)-Stufe ist die Ausfällung als CuJ am vorteilhaftesten. Die in saurer Lösung spontan verlaufende Reaktion zwischen Cu^{2+} und J^{-} wird unmerkbar, wenn man bei höheren p_H-Werten und in Gegenwart von Acetat arbeitet. Ein p_H-Wert von etwa 5 ist auch noch aus anderen Gründen zweckmäßig. Wie R. Bock u. M. Herrmann[1] zeigten, wird das Redoxpotential des Fe^{3+}/Fe^{2+}-Systems bei zunehmendem p_H-Wert stark erniedrigt, während die Verhältnisse beim Kupfer anders liegen. Hier ergaben orientierende Messungen mit einer Platinelektrode in einer Aufschlämmung von CuCl in 0,1 n $CuSO_4$-Lösung eine nur geringfügige Änderung des Potentials, wenn der p_H-Wert durch zugesetzte Natronlauge von 1 auf 6 erhöht wurde. Bei p_H 5 tritt also bei einer potentiometrischen Titration von $CuSO_4$ mit $FeSO_4$ im Äquivalenzpunkt ein größerer Sprung auf als in mineralsaurer Lösung. Ferner ist die ätzende Wirkung der Fluoridlösung bei p_H 5 so gering, daß unbedenklich Glas als Material der Gefäße und Elektroden benutzt werden kann.

Die Titration selbst muß natürlich unter Ausschluß des Luftsauerstoffes durchgeführt werden, da sonst die durch das Fluorid stark reduzierend gewordene $FeSO_4$-Lösung den gelösten Sauerstoff angreift, wodurch der Potentialsprung stark abgeflacht wird. (Die Möglichkeit, $FeSO_4$/KF-Mischungen als Absorptionsmittel für gasförmigen Sauerstoff zu benutzen, scheint gegenüber den anderen gebräuchlichen Verfahren keinen Vorteil zu besitzen.)

Als sehr handliche Apparatur für die Ausschaltung der Luft wurde die in der Abb. 1 skizzierte Anordnung benutzt. Das als Titrationsgefäß dienende, oben plan geschliffene 100 ml-Becherglas wird in ein größeres, zur Hälfte mit Wasser von

60° C gefülltes Gefäß getaucht und durch den Auftrieb gegen die Kunststoffplatte gepreßt, die die Bohrungen für die notwendigen Zuleitungen enthält. Gespült wurde mit Reinststickstoff der Fa. Linde (max. 0,01% O_2). Das Einleitungsrohr ist zweckmäßig verschiebbar, so daß bei anderen Titrationen der Stickstoff auch wahlweise nur auf die Lösung geleitet werden kann. Der Stickstoff entweicht durch einen Quarzwolle-Pfropfen, der die etwas größere Bohrung für die verlängerte Bürettenspitze elastisch verschließt.

Zur Titration wird eine 0,1 n $FeSO_4$-Lösung verwendet, die zugleich 0.1 n an HCl ist. Sie kann in schwefelsaurer Lösung gegen Dichromat oder, wie weiter unten erwähnt, gegen Jodlösung eingestellt werden. Für Reihenuntersuchungen empfiehlt sich eine Titerstellung gegen eine Standard-Kupferlösung. Die $FeSO_4$-Lösung wird aus einer 10 ml-Bürette zugegeben, die in ihrem unteren Teil eine etwa 3,5 cm lange Schicht von Silberpulver enthält, welches aus Silbernitratlösung durch Auszementieren mit Kupferblech hergestellt worden ist. Der Verbrauch der Silberschicht nach der Gleichung $Fe^{3+} + Cl^- + Ag = Fe^{2+} + AgCl$ kann an der durch Photolyse des Silberchlorids auftretenden Schwarzfärbung verfolgt werden.

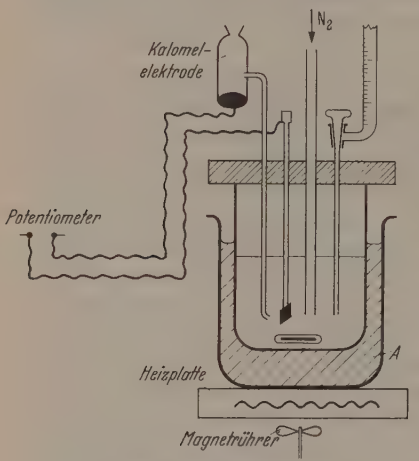

Abb. 1. Skizze der Titrationsapparatur

Als Komplexbildner wird eine 20%ige KF-Lösung benutzt, ferner benötigt man eine etwa 0,2 n KJ-Lösung und einen Acetatpuffer als Mischung gleicher Teile von je 2 m Essigsäure und Natriumacetat.

Zur Kupferbestimmung wird die etwa 5—50 mg Cu enthaltende, mäßig mineralsaure Kupfersalzlösung in der angegebenen Reihenfolge mit 10 ml 1 n Acetatpuffer, 5 ml 20%iger KF-Lösung und 10 ml 0,2 n KJ-Lösung versetzt. Dann wird auf rund 50 ml aufgefüllt, der Stickstoffstrom angestellt und die Lösung auf etwa 60° C erwärmt. Läßt man nun die $FeSO_4$-Lösung zufließen, so scheidet sich weißes CuJ aus und der Verlauf der Titration ist an der Abnahme der Blaufärbung gut zu verfolgen, wenn die Lösung keine weiteren gefärbten Ionen enthält.

Der Endpunkt wird am besten potentiometrisch ermittelt. Als Indicatorelektrode verwendet man ein kleines Platinblech, das zum Reinigen 1—2 min lang mit einer Lösung von $SnCl_2$ in konz. Salzsäure behandelt und zuerst mit konz. Salzsäure, dann mit Wasser gespült wird. Der durch 0,02 ml 0,1 n $FeSO_4$-Lösung in 60 ml Endvolumen im Äquivalenzpunkt hervorgerufene Potentialsprung beträgt etwa 50 mV. Bei einer Serie von 10 Bestimmungen in reiner Kupfersalzlösung lag die maximale Streuung bei 0,7%, der mittlere Fehler bei 0,25%.

Der Endpunkt kann auch nach der voltammetrischen Methode mit zwei polarisierten Elektroden ermittelt werden. Wir verwendeten zur Messung der Änderung der Polarisationsspannung das Gerät „Titravit"

und als Elektrodenpaar zwei Platindrähte von 10 mm Länge, die in 5 mm Abstand in ein Glasrohr eingeschmolzen waren. Ein Zusatz von Leitsalz erübrigt sich wegen des hohen Gehaltes der Lösung an Acetat und Fluorid. Die größte Änderung der Polarisationsspannung, die sprunghaft auftritt, soll nach J.-E. Dubois u. W. Walisch[2] den Endpunkt anzeigen. Dieser Sprung lag bei der Kupferbestimmung jedoch stets einige Promille vor dem Äquivalenzpunkt. Auch bei gleichzeitiger potentiometrischer und voltammetrischer Indizierung erfolgte der Sprung zuerst beim Titravit-Gerät. Mit dem theoretischen Endpunkt stimmte besser der Gipfelwert der Spannung überein (Abb. 2). Es ist ein Nachteil der

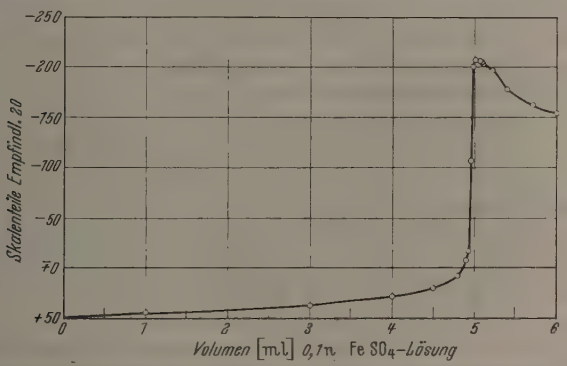

Abb. 2. Ferrometrische Kupferbestimmung, voltammetrische Indizierung. Gegeben: 5,00 ml 0,1 n $CuSO_4$-Lösung; Titration in 5 ml 20%iger KF-Lösung + 10 ml 1 n Acetatpufferlösung, auf 50 ml aufgefüllt, bei 60° C unter N_2-Durchleitung

Methode, daß aus den Änderungen der Polarisationsspannung vor und nach dem größten Sprung der Endpunkt nicht genau durch Berechnung ermittelt werden kann, wie es bei der potentiometrischen Methode möglich ist. Die voltammetrische Indizierung dürfte vor allem für Reihenuntersuchungen Vorteile bieten.

Will man die Kupfertitration ohne meßtechnischen Aufwand auf rein chemischem Wege durchführen, so bieten sich hierfür grundsätzlich drei Möglichkeiten an: 1. kann die Indicatorelektrode durch einen Redoxindicator ersetzt werden, 2. kann das praktisch völlige Verschwinden der Cu^{2+}-Ionen ermittelt werden und 3. kann das sprunghafte Anwachsen der Fe^{2+}-Ionenkonzentration zur Endpunktsbestimmung benutzt werden.

Als Redoxindicator ist Variaminblau, 4-Amino-4′-methoxy-diphenylamin, brauchbar. Löst man Variaminblau-B-HCl der Fa. Merck zu einer 0,1%igen Lösung in Wasser/Alkohol (1:1), so erteilt 1 ml dieser Lösung einer gepufferten und mit Fluorid versetzten Kupfersalzlösung eine wechselnde Färbung, die nach Zusatz der ersten Tropfen Eisenlösung in rein Rosa umschlägt. Im Endpunkt wird die Lösung entfärbt, der

Umschlag ist reversibel. Die Entfärbung fällt mit dem größten Potentialsprung bei der potentiometrischen Indizierung zusammen, es ist aber eine gewisse Übung erforderlich, um den Umschlag von Rosa nach Farblos eindeutig erkennen zu können.

Zur chemischen Endpunktsindizierung auf Grund der Cu^{2+}-Konzentrationsänderung kann das 3-Methyl-benzthiazolin-2-azino-5-(5,8-dihydro-8-hydroxychinolin) dienen. Der von S. Hünig u. E. Grigat[4] dargestellte und von H. Klamberg[6] als sehr kupferselektiv erkannte Farbstoff wird zu einer 0,01%igen Lösung in Methanol gelöst. 1 ml dieser Lösung färbt die 50 ml der zur Analyse vorbereiteten Kupferlösung blau. Am Äquivalenzpunkt schlägt die Farbe von Hellblau nach Rosa um. Auch hier ist Übung zur Erkennung des Endpunktes notwendig. Die Streuung beträgt daher etwas über 1%, im Durchschnitt liegen die Ergebnisse etwa 0,4% über dem theoretischen Wert.

Für die Sichtbarmachung des sprunghaften Ansteigens der Fe^{2+}-Konzentration im Endpunkt konnte kein geeigneter Indicator gefunden werden.

Die Kupferbestimmung wurde unter der angegebenen Arbeitsvorschrift geprüft in Gegenwart etwa der gleichen Mengen folgender Kationen: NH_4^+, Ca, Ba, Zn, Cd, Pb, Ti, Zr, Sb^V, Mo^{VI}, W^{VI}, Mn, Co und Ni. Hierbei traten keine Störungen auf. Zn und Sn wurden auch in fünffacher Menge zugesetzt, ohne daß die Kupferbestimmung beeinträchtigt wurde. Al, Be und Fe^{III} in größerer Menge machen die Potentialanzeige schleppend, die Störung durch das entstehende Fe^{3+} macht sich auch bei der Titration großer Kupfermengen (etwa 100 mg und mehr) unter den in dieser Arbeit benutzten Volumverhältnissen bemerkbar.

Gestört wird die Kupferbestimmung durch die Gegenwart von Hg, Bi, As (in beiden Wertigkeiten), Sb^{III}, Au, V^V, und U^{VI}. Die Störung durch Antimon kann durch Oxydation des Elementes zur fünfwertigen Stufe aufgehoben werden.

Von den in Mengen von 0,5—1 g zugesetzten Anionen Tartrat, Oxalat, Acetat, Phosphat, Sulfat, Chlorid, Nitrat und Nitrit störte nur das Nitrit, weil es Jod ausscheidet und langsam von Fe^{II} reduziert wird. Nitrit, welches durch Lösen von Legierungen in Salpetersäure entstanden ist, muß durch Harnstoff oder durch Abrauchen aus der Lösung entfernt werden. Die Unempfindlichkeit der Bestimmungsmethode gegen die komplexbildenden Anionen ist der Hauptvorteil des Verfahrens gegenüber der jodometrischen Kupfertitration.

Die neue Arbeitsweise wurde zur direkten Kupferbestimmung in Messing und Bronze verwendet, die in Salpetersäure (1:1) gelöst und durch Abrauchen mit Schwefelsäure von Stickoxyden befreit wurden. Es ergab sich gute Übereinstimmung mit den auf andere Weise bestimmten Kupferwerten.

Durch die Komplexbildung des Fe^{3+} mit KF in acetatgepufferter Lösung kann die Reaktion

$$2\ Fe^{3+} + 2\ J^- \rightleftarrows 2\ Fe^{2+} + J_2,$$

die normalerweise von links nach rechts verläuft, völlig umgekehrt werden. Hierdurch ergibt sich die Möglichkeit, die Eisenlösung gegen eine vorhandene Jodlösung einzustellen. Versetzt man 5—10 ml 0,1 n Jodlösung mit 10 ml 20%iger KF-Lösung und 10 ml 1 m Acetatpuffer, verdünnt auf 50 ml und erwärmt auf 50°C, so tritt beim Titrieren mit der $FeSO_4$-Lösung unter Stickstoffatmosphäre am Äquivalenzpunkt ein gut ausgeprägter Sprung auf, der für 0,02 ml Eisenlösung etwa 80 mV beträgt. Für die Bestimmung des Jods hat die neue Möglichkeit geringere Bedeutung, da die Varianz größer ist als bei der Jodtitration mit Thiosulfat.

Die vorliegende Untersuchung wurde durch Mittel des Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Hierfür sei auch an dieser Stelle gedankt.

Literatur

[1] Bock, R., u. M. Herrmann: Z. anorg. allg. Chem. **273**, 1 (1953). — [2] Dubois, J.-E., W. Walisch u. Mitarb.: C. R. Acad. Sci. **242**, 1161, 1289, 1452 (1956); vgl. diese Z. **154**, 441 (1957). — Walisch, W., u. M. R. F. Ashworth: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 632 (1958); vgl. diese Z. **167**, 435 (1959). — [3] Erdey, L., u. K. Vigh: Diese Z. **157**, 184 (1957). — [4] Grigat, E.: Diss. Marburg 1959. — [5] Kirk, R. E.: J. Amer. chem. Soc. **50**, 337 (1928). — [6] Klamberg, H.: Privatmitteilung, noch unveröffentlichte Untersuchungen 1958/59. — [7] Mahr, C.: Vortrag Freiberg/Sa., vgl. Angew. Chem. **70**, 601 (1958). — [8] Přibil, R., J. Doležal u. V. Simon: Chem. Listy **47**, 1017 (1953); vgl. diese Z. **142**, 376 (1954). — [9] Walden, G. H., L. P. Hammett u. S. M. Edmonds: J. Amer. chem. Soc. **56**, 57 (1934); vgl. diese Z. **101**, 368 (1935).

Prof. Dr. C. Mahr, Marburg/Lahn, Georg-Voigt-Straße 1/s

Aus dem II. Chemischen Institut der Universität Wien
(Lehrkanzel für analytische Chemie)

Solochrome Violet R als Reagens zur spektrophotometrischen Bestimmung von Mikrogrammengen Molybdän

Von
J. Korkisch und Maher Osman

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. September 1959)

Das bei der unlängst beschriebenen Methode zur titrimetrischen[1] und spektrophotometrischen Bestimmung[2] von Mikrogrammengen Zirkonium verwendete Reagens Solochrome Violet R kann auch zur raschen

und genauen Bestimmung von Mikrogrammengen Molybdän herangezogen werden. Solochrome Violet R bildet in schwach salzsaurer Lösung mit Molybdän einen rotgefärbten Komplex, der selbst bei Anwesenheit von ÄDTA beständig ist. Dadurch können viele Fremdionen, vor allem das Zirkonium maskiert werden, so daß das Molybdän selbst bei Anwesenheit von Milligrammengen Zirkonium störungsfrei bestimmt werden kann. Mit der vorliegenden Methode können noch 2 μg Molybdän/10 ml Meßlösung mit relativ großer Genauigkeit erfaßt werden.

Lösungen, Reagentien und Apparate

Molybdänstandardlösungen. Eine genau gewogene Menge an Ammoniummolybdat $(NH_4)_6Mo_7O_{17} \cdot 4H_2O$ wurde in dest. Wasser gelöst. Die entstehende Lösung wies einen auf gravimetrischem Wege überprüften Gehalt von 5 mg Molybdän/ml auf. 1 ml dieser Lösung wurde mit dest. Wasser auf 250 ml verdünnt: 1 ml = 20 μg Molybdän. Auf analoge Weise wurden Standardlösungen mit geringeren und höheren Gehalten als 20 μg Molybdän/ml hergestellt.

Farbstofflösung. Es wurde eine 0,01%ige wäßrige Lösung von Solochrome Violet R* verwendet, die aus einer 0,1%igen wäßrigen Lösung des Farbstoffes immer frisch hergestellt wurde.

Lösungen anderer Elemente. Es wurden 0,1 n salzsaure Standardlösungen der Elemente Zirkonium und Eisen(III) sowie eine wäßrige Wolfram-Standardlösung verwendet.

Ferner wurden angewendet Salzsäurelösungen unterschiedlicher Normalität und eine 0,01 m ÄDTA-Lösung.

Die Messungen wurden mit einem Beckman-Spektrophotometer Modell B, bei einer Wellenlänge von 565 mμ unter Anwendung von 1 cm-Küvetten und einer blauempfindlichen Photozelle durchgeführt.

Auswahl der geeigneten Wellenlänge

1 ml einer Ammoniummolybdatlösung, die 20 μg Molybdän/ml enthielt, wurde mit 1 ml 1 n Salzsäure versetzt und nach Zugabe von 1 ml der 0,01%igen Farbstofflösung mit dest. Wasser auf 10 ml aufgefüllt. Anschließend wurde die Extinktion der Lösung gegenüber einem analog hergestellten Leerwert im Wellenlängenbereich von 545—620 mμ gemessen.

Tabelle

Wellenlänge mμ	Extinktion	Wellenlänge mμ	Extinktion
545	0,009	575	0,088
550	0,037	580	0,082
555	0,067	585	0,076
560	0,075	590	0,068
565	0,090	600	0,053
570	0,090	620	0,025

Die Ergebnisse dieser Messungen sind in der Tabelle zusammengestellt, aus der hervorgeht, daß bei einer Wellenlänge von 565 mμ der rotgefärbte Molybdän-Farbstoffkomplex die maximale Extinktion aufweist. Alle weiteren Messungen wurden daher bei dieser Wellenlänge ausgeführt.

* Dieser Farbstoff wurde von der Fa. Imperial Chemical Industries. Ltd., Hexagon House, Blackley, Manchester, bezogen.

Einfluß der Farbstoffkonzentration

Es wurde eine Reihe von Lösungen hergestellt, die jeweils 20 μg Molybdän enthielten. Zu diesen Lösungen wurden verschiedene Mengen der Farbstofflösung und je 1 ml 1 n Salzsäure zugesetzt. Nach dem Auffüllen mit dest. Wasser auf 10 ml wurden die Extinktionen gegenüber analog hergestellten Leerwerten gemessen.

Wie aus Abb. 1 zu entnehmen ist, wird die optimale Farbstoffkonzentration bei Zusatz von 2 ml der Farbstofflösung erreicht.

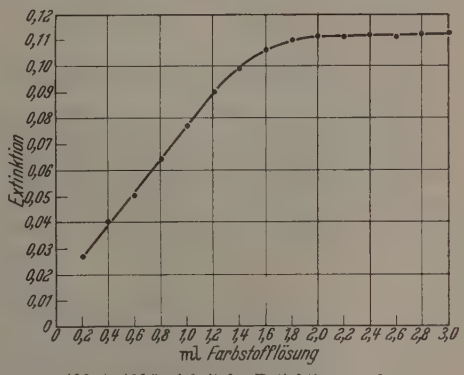

Abb. 1. Abhängigkeit der Extinktion von der Farbstoffkonzentration

Einfluß der Acidität

Es wurde eine Reihe von Lösungen hergestellt, die jeweils 1 ml der Molybdatlösung, (20 μg Molybdän) und 2 ml der Farbstofflösung enthielten. Nach Zugabe von 0,2—3 ml 1 n Salzsäure und Auffüllen mit dest. Wasser auf 10 ml wurden die Extinktionen der Lösungen gemessen.

Aus der in Abb. 2 dargestellten Kurve geht hervor, daß im Bereich von 0,05—0,15 n Salzsäure die Extinktion der Lösung von der Acidität unabhängig ist, d. h. die Extinktion bleibt konstant. Für alle weiteren Versuche wurde daher die in der Mitte dieses Konstanzbereiches liegende Salzsäurenormalität von 0,1 verwendet.

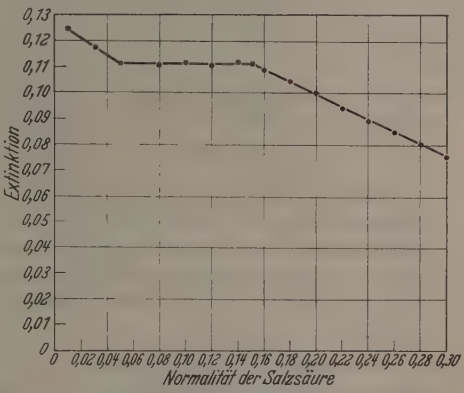

Abb. 2. Abhängigkeit der Extinktion von der Acidität

Einfluß der Zeit und der Temperatur

Die Farbentwicklung erreicht schon 6 min nach Zusatz des Farbstoffes ihre volle Intensität, die erst nach 12 Std wieder abnimmt. Im Temperaturbereich von 15—30° C ändert sich die Extinktion der Lösung praktisch überhaupt nicht.

Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes

Die Meßlösungen setzten sich zusammen aus: 0—50 μg Molybdän, 1 ml 1 n Salzsäure, 2 ml der 0,01%igen Farbstofflösung und dem auf 10 ml fehlenden Rest an dest. Wasser. Alle Lösungen waren 0,1 n an

Salzsäure. Die Extinktionen wurden bei einer Wellenlänge von 565 mμ gemessen.

Die Meßergebnisse sind in Abb. 3 wiedergegeben. Wie daraus ersichtlich ist, wird das Lambert-Beersche Gesetz im Konzentrationsbereich von 0—30 μg Molybdän/10 ml Meßlösung erfüllt.

Empfindlichkeit und Reihenfolge der Reagentienzugabe

Bei Verwendung des Beckman-Spektrophotometers Modell B lassen sich, wie aus Abb. 3 hervorgeht, noch 0,2 μg Molybdän/ml bestimmen. Der prozentuelle Fehler beträgt im Bereich von 2—15 μg Molybdän ± 7%, im Konzentrationsbereich von 15—30 μg Molybdän nur mehr ± 4—5%.

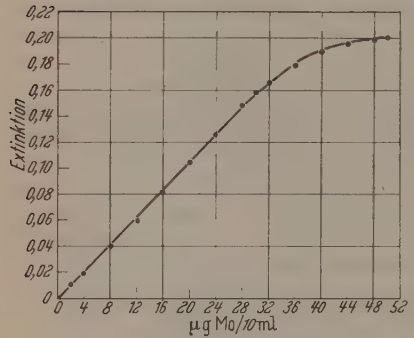

Abb. 3. Eichkurve

Die Reihenfolge der Reagentienzugabe hatte, wie auf Grund einer Anzahl von Versuchen ermittelt wurde, keinen Einfluß auf die Meßresultate.

Einfluß von Fremdionen

Zirkonium läßt sich, selbst wenn es in Milligrammengen neben dem Molybdän vorhanden ist, durch Zugabe von einigen Millilitern einer 0,01 m ÄDTA-Lösung maskieren. Wolfram- und Eisen(III)-ionen können dagegen auf diese Art nicht maskiert werden.

Durch Zusatz von Ascorbinsäure wird das dreiwertige Eisen zu zweiwertigem reduziert und kann dementsprechend nicht mehr den Farbstoff oxydativ zerstören[1]. Da aber größere Mengen an Eisen(II)-ionen mit dem Farbstoff einen roten Komplex geben[1], so ist ein Zusatz von Ascorbinsäure nur dann wirkungsvoll, wenn nur sehr geringe Mengen an Eisenionen anwesend sind, d. h. in diesem Falle läßt sich das Molybdän störungsfrei bestimmen. Alle Versuche zur Maskierung des Wolframs mit Komplexbildnern, wie z. B. Wein- oder Citronensäure führten nicht zum gewünschten Erfolg, da dabei auch das Molybdän ganz oder teilweise mitmaskiert wird.

Alle anderen Ionen, wie z. B. Thorium, Aluminium, Zink, Cadmium, die Alkalien, Erdalkalien, Fluorid- und geringe Mengen an Sulfationen stören die Molybdänbestimmung nicht.

Von den gefärbten Ionen, wie z. B. Kupfer, Chrom(III), Nickel usw. stören nur größere Mengen infolge ihrer Eigenfärbung. Sehr störend wirkt sich die Anwesenheit von Phosphorsäure aus.

Gegenwärtig werden von uns Versuche unternommen, um diese störenden Ionen mittels Ionenaustausches oder durch Extraktion vom Molybdän abzutrennen.

Arbeitsvorschrift

Der Rückstand der auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampften molybdänhaltigen Lösung wird unter gelindem Erwärmen portionenweise in insgesamt 5 ml 0,1 n Salzsäure aufgenommen und gleichzeitig in einen 10 ml-Meßkolben gebracht. Hierauf werden einige Kristalle Ascorbinsäure zur Reduktion von gegebenenfalls anwesenden geringen Eisenmengen zugesetzt und die Lösung 5 min lang stehen gelassen. Anschließend werden 2 ml der 0,01 m ÄDTA-Lösung (zur Maskierung des Zirkoniums) sowie 2 ml der 0,01%igen Farbstofflösung zugesetzt, mit 0,1 n Salzsäure wird zur Marke aufgefüllt und die Extinktion der Lösung gegenüber einem analog hergestellten Leerwert gemessen. Aus der gemessenen Extinktion wird dann mit Hilfe einer Eichkurve der Molybdängehalt der Lösung ermittelt.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird eine rasche und genaue spektrophotometrische Bestimmung von Mikrogrammengen Molybdän beschrieben. Als Reagens wird der Azofarbstoff Solochrome Violet R verwendet. Dieser bildet mit Molybdän in schwach salzsaurem Medium einen rotgefärbten Komplex, der selbst bei Anwesenheit von ÄDTA beständig ist. Dadurch ist es möglich, den störenden Einfluß anderer Ionen, z.B. den des Zirkoniums, auszuschalten. Mit dieser Methode lassen sich noch 2,0 μg Molybdän/10 ml Meßlösung mit relativ hoher Genauigkeit bestimmen.

Wir danken Herrn Prof. Dr. F. Hecht für seine Unterstützung, die für das Zustandekommen dieser Arbeit von großem Nutzen war.

Literatur

[1] Korkisch, J., u. A. Farag: diese Z. **165**, 6 (1959). — [2] Korkisch, J., u. M. Osman: diese Z. **171**, 107 (1959).

Dr. J. Korkisch, II. Chem. Institut der Universität, Wien IX, Währingerstraße 38 (Österreich)

Staatliches agrikulturchemisches Laboratorium Helsinki (Finnland)

Über die Bestimmung von Fluor in Gegenwart einiger störender Ionen

Von

Viljo P. Hirsjärvi, Elsa Kenttämaa, Marjatta Suurinkeroinen, Berit Aimonen und Rita Martti

(Eingegangen am 23. März 1959)

Die vorliegende Untersuchung wurde unternommen, um ein für die Fluorbestimmung in der Größenordnung von Milligrammen geeignetes Verfahren zu finden. Das Verfahren sollte bei möglichst einfacher Durchführung hinreichend exakte Resultate in Gegenwart der allgemein in den Mineralfuttermitteln auftretenden Ionen geben und sich auch auf Rohphosphate anwenden lassen. Ausgangspunkt für unsere Arbeit war die bekannte Methode von Willard u. Winter[19], die zwar verhältnismäßig umständlich ist, aber recht genaue Werte liefert[2].

Schon Willard u. Winter[19] haben festgestellt, daß zahlreiche Ionen die Bestimmung von Fluor nach dieser Methode beeinträchtigen, weitere störende Ionen sind bei späteren Untersuchungen aufgefunden worden[4,7,8,11,13,15,16,18]. Die Störungen sind größer, wenn man die Titration in wäßrig-äthanolischer Lösung durchführt, aber auch beim Titrieren in wäßriger Lösung sind nach Meinung zahlreicher Forscher genaue Werte nur zu erhalten, wenn man ziemlich umständliche und zeitraubende Maßnahmen zur Beseitigung der Störungen anwendet. Über die zulässigen Mengen an den Störstoffen liegen bisher nur vereinzelte Angaben vor[1,10,11,12,14,16]. Um festzustellen, wie die Verhältnisse bei den uns in erster Linie interessierenden Mineralfuttermitteln und Rohphosphaten liegen, haben wir zahlreiche Fluorbestimmungen in Gegenwart der Anionen und Kationen durchgeführt, die in den genannten Materialien vorkommen.

Für das Verfahren von Willard-Winter sind wir auf Grund der eigenen Versuche und der Angaben in der Literatur zur folgenden Modifikation gekommen:

In einen 50 ml Pyrex-Destillationskolben wurden 6 kleine Stücke Pyrexglas eingebracht sowie genau abgemessene Fluormengen in Form einer wäßrigen Natriumfluoridlösung. Anschließend wurden durch einen langstieligen Glastrichter die zu untersuchenden Salze und 10 ml 60%ige fluorfreie Perchlorsäure zugegeben, worauf das Flüssigkeitsvolumen mit fluorfreiem Wasser auf genau 15 ml ergänzt wurde. Das fluorfreie Wasser wurde hergestellt, indem durch einen Ionenaustauscher gereinigtes Wasser mit alkalischer Kaliumpermanganatlösung versetzt und nochmals destilliert wurde. Hatte die Temperatur des Destillationskolbens im

Luftbad 135° C erreicht, leitete man in den Kolben fluorfreien Wasserdampf ein und hielt während der gesamten folgenden Destillation die Temperatur genau auf 137 ± 2° C. Das Einleiten des Wasserdampfs und das Heizen des Destillationskolbens wurden so geregelt, daß die Destillationszeit stets 40 min betrug. Das Destillat wurde in einem 300 ml-Erlenmeyer-Kolben aufgefangen, in den unmittelbar nach dem Überdestillieren der ersten Tropfen 1—2 Tropfen einer 0,5%igen wäßrigen Paranitrophenollösung gegeben wurden. Das Destillat wurde während der gesamten Destillation durch tropfenweisen Zusatz von 0,5 n Kaliumhydroxydlösung schwach gelb gehalten. Nachdem sich im Erlenmeyer-Kolben 200 ml Lösung angesammelt hatten, spülte man das Destillat mit fluorfreiem Wasser in einen 250 ml-Meßkolben und füllte bis zur Eichmarke mit fluorfreiem Wasser auf. 25 ml dieser Lösung wurden in einem 100 ml-Becherglas mit 1 ml 0,025%iger Natriumalizarinsulfonatlösung, 20 ml fluorfreiem Wasser und so viel 0,4 n Essigsäure versetzt, daß der autoionometrisch gemessene p_H etwas unter 3,35 lag. Das Volumen wurde mit fluorfreiem Wasser auf genau 50 ml ergänzt und kontrolliert, daß der p_H jetzt genau 3,35 betrug. Schon geringe Abweichungen von dieser Acidität verursachten wahrnehmbare Analysenfehler[6,17]. Als in dieser Weise die notwendige Menge Essigsäure bestimmt war, wurden erneut 25 ml Lösung abpipettiert, dieses Mal in einem 100 ml-Erlenmeyer-Kolben mit 1 ml Indicator sowie der durch den Versuch ermittelten Menge Essigsäure versetzt und mit fluorfreiem Wasser auf genau 50 ml verdünnt. Diese Lösung wurde mit 0,02 n Thoriumnitratlösung titriert, die 0,5 n hinsichtlich Essigsäure war. Dazu wurden mit einer 0,02 ml-Einteilung versehene 5 ml-Büretten verwendet. Die Titration wurde durchgeführt, bis der Farbton einer Normlösung erreicht war, die in einem Volumen von 50 ml von 12,3 ml Kobaltnitratlösung (628,6 mg $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ auf 100 ml) und 6 ml Kaliumdichromatlösung (10,7 mg $K_2Cr_2O_7$ auf 100 ml) enthielt. Die Normlösung befand sich in einem mit Schliffstöpsel versehenen Erlenmeyer-Kolben, der möglichst von gleicher Art war wie derjenige, in dem die Titrationen durchgeführt wurden. Die Titration wurde 5—6mal wiederholt und das Analysenresultat aus dem Mittelwert unter Berücksichtigung des Wertes der Blindprobe errechnet.

Die Voraussetzung guter Resultate ist, daß man noch die folgenden Punkte besonders genau beobachtet:

Wenn die zu analysierende Substanz organische Stoffe in stärkerem Maße enthält, müssen diese vor der Destillation zersetzt werden.

Alle Verbindungen der Destillationsapparaturen sollen aus Glasschliffen bestehen.

Bei der Destillation soll man die Überhitzung der Wandungen oberhalb der Flüssigkeitsoberfläche vermeiden.

Beim Analysieren von unbekannten Proben ist es notwendig zurückzutitrieren. Direkte Titration ist nur zu empfehlen, wenn der Verbrauch an Titriermittel von vornherein ziemlich genau feststeht. Wenn alle Bedingungen bei der Titration stets möglichst gleich gehalten werden, erhält man ausreichend genaue Resultate.

Bei der Titration muß man für entsprechende Beleuchtung, für Temperaturkonstanz und gutes Umschwenken sorgen.

Zur Einstellung der Thoriumnitratlösung eignet sich am besten Kaliumsilicofluorid[5]. Da die Titration des Silicofluorids mit Thoriumnitrat in wäßriger Lösung nicht in äquivalenten Verhältnissen erfolgt, und dieses Verhältnis sich mit den Änderungen des Fluorgehalts verschiebt, muß für jeden bei den Versuchen verwendeten Fluorgehalt die zugehörige Menge der Thoriumnitratlösung unter den Titrationsbedingungen festgestellt werden.

Alle bei den Versuchen benutzten Reagentien müssen möglichst rein sein. Die Perchlorsäure ist noch besonders zu reinigen[4,13,16], wobei man jedes Mal nur den Bedarf einiger Tage verarbeitet.

Das destillierte Wasser wie auch die Kaliumhydroxyd- und Kaliumsilicofluoridlösung müssen in Polythen- oder paraffinierten Glasflaschen aufbewahrt werden.

Die Apparatur ist sorgfältig in Abständen von einigen Tagen oder, falls sie zwischendurch außer Gebrauch war, vor der erneuten Ingebrauchnahme mit Natriumhydroxydlösung, Schwefelsäure und dest. Wasser zu reinigen[4,5,13,16]. Auch das in die Destillationskolben als Siliciumquelle eingebrachte Glas oder andere derartige Stücke sind in der gleichen Weise zu reinigen.

Nach der Reinigung der Apparatur sind stets so lange Blindproben durchzuführen, bis der erhaltene Wert möglichst klein ist und anfängt, konstant zu bleiben. Die Blindproben sind unter völlig gleichen Bedingungen wie die Analysen selbst durchzuführen. Es sind also die gleichen Chemikalien in genau gleicher Menge sowie auch die gleiche Apparatur zu verwenden.

Bei der Fluorbestimmung in der Größenordnung von Milligrammen nach der Methode von Willard-Winter werden in den Destillationskolben etwa 2 g oder im Bedarfsfall weniger Analysensubstanz gegeben. Da Rohphosphate bis zu 3,5% Fluor enthalten können, und in der Praxis die unterste Fluorgrenze, die bei Mineralfuttermitteln berücksichtigt werden muß, 0,05% sein dürfte, wären in 50 ml Lösung bei 2 g Einwaage 7—0,1 mg Fluor zu titrieren. Da die Fluortitration noch im Gebiet von 0,6—0,1 mg empfindlich ist[3,4,6,11,13,15,16], wird man unter Umständen mit weniger Analysensubstanz auskommen. Insbesondere dann, wenn die Analysensubstanz störende Ionen enthält, ist es vorteilhaft, die geeignete Titrationskonzentration durch kleine Einwaage und nicht durch Verdünnen des Destillates zu erreichen[9]. Variiert man die Menge der Analysensubstanz in geeigneter Weise, so lassen sich alle bei Rohphosphaten und Mineralfuttermitteln in Frage kommenden Fluorgehalte folgendermaßen einordnen (Tab. 1).

Tabelle 1

Fluorgehalt %	Analysensubstanz g	zu titrierende Fluormenge mg
3,0	0.2	0,6
1,0	0,2	0,2
1,0	0,5	0,5
0,5	0,5	0,25
0,5	1,0	0,5
0,1	1,0	0,1
0,1	2,0	0,2
0,05	2,0	0,1

Um den Einfluß der verschiedenen Ionen zu untersuchen, die in den Mineralfuttermitteln und den Rohphosphaten auftreten, haben wir Zusatzversuche ausgeführt, deren Ergebnisse in Tab. 2 zusammengestellt sind. Die zugesetzten Höchstmengen an Fremdionen entsprechen den in Finnland bei Analysen von Mineraldüngemitteln und Rohphosphaten bisher beobachteten Höchstgehalten an Beimengungen. Die Fremdionen wurden einzeln oder auch in Gemischen zugesetzt. Alle Versuche wurden in 4 Parallelbestimmungen ausgeführt. Die Zusammensetzung der bei den Versuchen angewandten Gemische war folgende: *Gemisch I:* 855 mg Na_2HPO_4, 300 mg Na_2CO_3, 300 mg Na_2SO_4 und 200 mg NaCl. *Gemisch II:* 450 mg Na_2HPO_4, 700 mg Na_2CO_3, 120 mg Na_2SO_4, 300 mg NaCl, 5 mg H_3BO_3 und 2 mg KJ. *Gemisch III:* 450 mg Na_2HPO_4, 700 mg Na_2CO_3,

120 mg Na_2SO_4, 300 mg NaCl und 2 mg KJ. *Gemisch IV:* 450 mg Na_2HPO_4, 700 mg Na_2CO_3, 120 mg Na_2SO_4, 300 mg NaCl und 5 mg

Tabelle 2

Störende Stoffe	mg Fluor		Durchschnittl. Fehler in Prozent	Größte Abweichung bei Parallelbestimmungen	
	angewendet	im Mittel gefunden		mg	%
200 mg Na_2SO_4 = 135 mg SO_4^{2-}	1,00	1,01	+ 1,0	0,02	± 1,0
	6,00	6,00	± 0,0	0,03	± 0,3
300 mg Na_2SO_4 = 203 mg SO_4^{2-}	1,00	1,01	+ 1,0	0,02	± 1,0
	6,00	6,00	± 0,0	0,02	± 0,2
20 mg NaCl = 12 mg Cl^-	1,00	1,00	± 0,0	0,00	± 0,0
	6,00	6,00	± 0,0	0,05	± 0,4
50 mg NaCl = 30 mg Cl^-	1,00	1,01	+ 1,0	0,02	± 1,0
	6,00	6,00	± 0,0	0,03	± 0,3
300 mg NaCl = 182 mg Cl^-	1,00	1,01	+ 1,0	0,02	± 1,0
	6,00	6,00	± 0,0	0,01	± 0,1
200 mg Na_2CO_3	1,00	1,01	+ 1,0	0,02	± 1,0
	6,00	6,00	± 0,0	0,04	± 0 3
300 mg Na_2CO_3	1 00	1,00	± 0,0	0,03	± 1,5
	6,00	5,98	− 0,3	0,04	± 0,3
1200 mg Na_2CO_3	1,00	1,00	± 0,0	0,02	± 1,0
	3,00	3,03	+ 1,0	0,03	± 0,5
	6,00	5,95	− 0,8	0,02	± 0,2
855 mg Na_2HPO_4 = 572 mg PO_4^{3-}	1,00	1,00	± 0,0	0,01	± 0,5
	6,00	5,97	− 0,5	0,05	± 0,4
820 mg $CaHPO_4$ = 572 mg PO_4^{3-}	1,00	1,00	± 0,0	0,02	± 1,0
855 mg Na_2HPO_4 + 500 mg CaO = 572 mg PO_4^{3-}	1,00	1,00	± 0,0	0,01	± 0,5
	6,00	6,00	± 0,0	0,02	± 0,2
10 mg H_3BO_3 = 9,5 mg BO_3^{3-}	1,00	1,00	± 0,0	0,00	± 0,0
	3,00	2,97	− 1,0	0,04	± 0,7
	6,00	5,83	− 2,9	0,10	± 0,8
3 mg KJ = 2,3 mg J^-	1,00	1,00	± 0,0	0,01	± 0,5
	6,00	5,93	− 1,2	0,02	± 0,2
Gemisch I	1,00	1,00	± 0,0	0,02	± 1,0
	6,00	6,00	± 0,0	0,02	± 0,2
Gemisch I + 800 mg $AgClO_4$	1,00	1,00	± 0,0	0,00	± 0,0
Gemisch II	1,00	0,95	− 5,0	0,00	± 0,0
	6,00	6,02	+ 0,5	0,11	± 0,9
Gemisch III	1,00	0,98	− 2,0	0,17	± 8,5
	6,00	5,92	− 1,3	0,13	± 1,1
Gemisch III + 1200 mg $AgClO_4$	3,00	3,00	± 0,0	0,08	± 1,3
Gemisch IV	1,00	1,00	± 0,0	0,02	± 1,0
	6,00	6,00	± 0,0	0,09	± 0,8
Gemisch V	1,00	1,00	± 0,0	0,08	± 4,0
	6,00	6,02	+ 0,3	0,06	± 0,5

H_3BO_3. *Gemisch V:* 450 mg Na_2HPO_4, 700 mg Na_2CO_3, 120 mg Na_2SO_4 und 300 mg NaCl.

Aus den durchgeführten Versuchen geht hervor, daß in den Grenzen der Versuchsbedingungen Sulfate, Chloride oder Orthophosphate (vgl.[10,16]) keinen störenden Einfluß auf die Fluorbestimmung haben. Die beobachteten kleinen Abweichungen vom Mittelwert sind sichtlich Versuchsfehler. Borsäure und Jodide stören ebenfalls nicht, wenn nur 1 mg Fluor vorliegt. Beim Steigen der Fluormenge verursachen sie dagegen kleine Minderwerte. 300 mg oder mehr Natriumcarbonat stören die Analysen, wenn über 1 mg Fluor vorhanden ist. Sekundäres Calciumorthophosphat verursacht keinen größeren Fehler als sekundäres Natriumorthophosphat (vgl.[1,11]). Die Ergebnisse der Parallelversuche weichen voneinander nicht allzu sehr ab. Die größten Abweichungen ergeben sich bei der Borsäure, weil sie die Destillation des Fluors erschwert. Die Gemische I, IV und V beeinträchtigen die Fluorbestimmung nicht. Bei den Gemischen II und III ergeben sich kleine Minderwerte bei der Fluorbestimmung. Die Fehler rühren im Gemisch II von der Wirkung der Borsäure und des Jodids, im Gemisch III ausschließlich von der Wirkung des Jodids her. Im letzten Fall kann der Fehler, wie ersichtlich, durch Zugabe von Silberperchlorat beseitigt werden. Die mit Gemisch I durchgeführten Versuche zeigen, daß der Zusatz von Silberperchlorat bei der Fluorbestimmung zulässig ist. Die Ergebnisse der Parallelversuche streuen bei den Gemischen (abgesehen vom Gemisch I) etwas stärker als bei den Einzelzusätzen, was auf der in den Gemischen enthaltenen Borsäure und der schlechten Färbung unter der Einwirkung des Jodids beruht.

Zusammenfassung

Bei der Durchführung der Fluorbestimmung unter Verwendung der von den Verff. modifizierten Methode von Willard-Winter verursachen die bei den Versuchen angewandten Mengen an Sulfaten, Chloriden oder Orthophosphaten keine Fehler bei der Bestimmung von Milligrammengen an Fluor. Auch der Einfluß von Boraten, Jodiden und Carbonaten ist so gering, daß ihnen wenigstens bei den Serienanalysen von Mineralfuttermitteln und Rohphosphaten in den Laboratorien keine Bedeutung zukommt. Demnach braucht man bei den genannten Analysen vor der Destillation keine besonderen Maßnahmen zu ergreifen, es sei denn, daß man die Jodide durch Silberperchlorat binden will. Um den geringen Einfluß der Borate vollständig zu eliminieren, ist es zweckmäßig, die Destillationsdauer etwas zu verlängern.

Literatur

[1] Armstrong, W. D.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **8**, 384 (1936); vgl. diese Z. **111**, 432 (1937/38). — [2] Ballczo, H., u. O. Kaufmann: Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **38**, 237 (1951); vgl. diese Z. **136**, 213 (1952). — [3] Clifford, P. A.: J.

Assoc. off. agric. Chemists **23**, 303 (1940). — [4] Clifford, P. A.: J. Assoc. off. agric. Chemists **24**, 350 (1941). — [5] Clifford, P. A.: J. Assoc. off. agric. Chemists **27**, 246 (1944). — [6] Dahle, D., R. U. Bonnar u. H. J. Wichmann: J. Assoc. off. agric. Chemists **21**, 459 (1938). — [7] Dahle, D., u. H. J. Wichmann: J. Assoc. off. agric. Chemists **19**, 313 (1936). — [8] Dahle, D., H. J. Wichmann u. R. U. Bonnar: J. Assoc. off. agric. Chemists **21**, 468 (1938). — [9] Fellenberg, T. von: Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **39**, 124 (1948). — [10] Garratt, D. C., u. D. D. Moir: Analyst **70**, 442 (1945). — [11] Gericke, S., u. B. Kurmies: diese Z. **132**, 335 (1951). — [12] Grimaldi, F. S., B. Ingram u. F. Cuttitta: Analyt. Chemistry **27**, 918 (1955); vgl. diese Z. **151**, 48 (1956). — [13] Hoskins, W. M., u. C. A. Ferris: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **8**, 6 (1936); vgl. auch diese Z. **111**, 432 (1937/38). — [14] Huckabay, W. B., E. T. Welch u. A. V. Metler: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **19**, 154 (1947). — [15] McClure, F. J.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **11**, 171 (1939). — [16] Reynolds, D. S., u. W. L. Hill: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **11**, 21 (1939); vgl. diese Z. **120**, 222 (1940). — [17] Rowley, R. J., u. H. V. Churchill: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **9**, 551 (1937); vgl. diese Z. **117**, 343 (1939). — [18] Willard, H. H., u. C. A. Horton: Analyt. Chemistry **22**, 1190 (1950); vgl. diese Z. **133**, 287 (1951). — [19] Willard, H. H., u. O. B. Winter: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **5**, 7 (1933); vgl. diese Z. **96**, 213 (1934).

Prof. Dr. V. P. Hirsjärvi, Perustie 19, Helsinki-Munkkiniemi (Finnland)

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

I. Allgemeine analytische Methoden, Apparate und Reagentien

Flammenphotometrie. M. T. Kelley, D. J. Fisher und H. C. Jones[1] beschreiben den Aufbau und die Wirkungsweise eines hochempfindlichen, schreibenden und durchregistrierenden *Flammenphotometers*. Die Verff. setzen an einen Beckman-Brenner 9215 einen Bausch & Lomb Gittermonochromator mit einem Öffnungsverhältnis f: 4,4 und einer linearen Dispersion von 66 Å/mm. Die Vorzugsrichtung des Gitters liegt im UV-Bereich der ersten Ordnung. Der Wellenlängenvorschub erfolgt mit einem Motor mit Getriebe, wie sie in Brown-Recordern zum Papiervorschub eingebaut sind. Als Lichtempfänger benutzen die Verff. die Multipliertypen 1 P 21 für Magnesium, Natrium oder Lithium, Typ 6217 für Natrium, Lithium oder Kalium und Typ 16 PM 1 für Kalium, Rubidium oder Caesium. Typ 1 P 28 wird vornehmlich im UV-Bereich gebraucht. Die Spannungsstabilisation für die Multiplier ist entsprechend umschaltbar für die Bereiche 600/1275 V und 1360/2040 V. Eine Dunkelstromkompensation ist vorgesehen. Der Multiplierbelastungswiderstand von 5 MΩ ist mit 0,047 μF überbrückt, so daß eine Zeitkonstante von 0,25 sec vorliegt. Mit einem angepaßten 10 mV-Brown-Recorder werden die Meßwerte geschrieben. Der Vorteil der Anlage liegt in der hohen Dispersion, der großen Lichtstärke, der Möglichkeit, bei fester Wellenlänge eine Mittelung des Meßwertes über die Zeit vornehmen und bei durchlaufender Wellenlänge bequem die Untergrundstrahlung links und rechts der Linie berücksichtigen zu können. Die Verff. geben an, mit dieser Apparatur bei einem Gehalt von 0,0005 ppm Lithium in wäßriger Lösung noch einen Ausschlag von 20% des Skalenendwertes erreicht zu haben, wobei die Schwankungen des Ausschlages nur 2% betragen haben.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 178—183 (1959). Union Carbide Nuclear Co., Oak Ridge, Tenn. (USA). F. Rosendahl

Säulenchromatographie. G. CLAXTON[1] beschreibt einen *Empfänger zur Charakterisierung von Eluaten der Flüssig-fest-Chromatographie*. Mit Hilfe eines Thermoelementes wird die durch den Wechsel der Adsorptionswärme hervorgerufene Temperaturveränderung in einem Capillarrohr gemessen. Abb. 1 zeigt den Aufbau des Empfängers, der direkt an die Säule angeschlossen wird. Als Beleg wird das mit einem solchen Empfänger geschriebene Diagramm einer *3-Komponentenanalyse* (*Isooctan*, *Diisobutylen*, *Benzol*; Verdrängungsmittel Isopropanol) gezeigt. Der innere Durchmesser der Capillare, die das Thermoelement enthält, beträgt 1,6 mm. Das Element wurde aus Drähten (0,01 cm ⌀) von 40% Palladium in Gold und 10% Iridium in Platin hergestellt. Der Empfänger kann gut für Fluorescenzindicator(FIA)-Analysen und auch Ionenaustauschtrennungen angewendet werden.

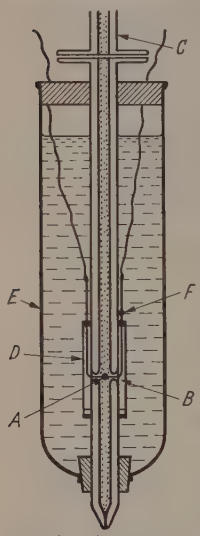

Abb. 1. Empfänger für die Flüssig-fest-Chromatographie nach CLAXTON

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 136—139 (1959). Benzole Prod. Ltd., Watford (England). D. JENTZSCH

M. VERZELE[1] gibt eine *Durchflußzelle (Volumen 2—3 ml) zur direkten Registrierung von Eluaten aus Säulen der Verteilungschromatographie* an. Zur optischen Messung diente ein Spektralphotometer „Beckman DU" mit Zusatzgeräten zur Stabilisierung der Null-Linie. Ein bei 276 nm aufgeschriebenes Chromatogramm wird als Beleg wiedergegeben.

[1] Nature (London) **183**, 604—605 (1959). Univ. Ghent (Belgien). D. JENTZSCH

Quantitative radiochemische Analyse durch Ionenaustausch. L. R. BUNNEY, N. E. BALLOU, J. PASCUAL und S. FOTI[1] haben die Verteilung von Metallionen aus salz-, salpeter- und schwefelsauren Lösungen von 0,1 n bis zu konz. Säuren zwischen der wäßrigen Phase und einem stark basischen Anionenaustauscher (Dowex 2) untersucht. Von den in Betracht gezogenen Ionen (Am^{3+}, Ce^{3+}, Mo^{6+}, Pa, Nb, Ru, Sr, Th, UO_2^{2+}, Y und Zr) werden Sr, Y, Am und Ce in keinem der untersuchten Systeme merklich am Austauscher adsorbiert. Th, UO_2^{2+} und Zr werden aus 8 n salpetersaurer Lösung am Dowex-2 am stärksten gebunden. Aus verdünnt schwefelsaurer Lösung werden besonders Mo^{6+}, U^{6+}, Nb, Zr und Pa absorbiert. Die Verff. geben im Original Verteilungskurven (Normalität der betreffenden Säure/Verteilungskoeffizient) an, die erkennen lassen, daß auf diesem Wege Metalltrennungen möglich sind.

In Fortsetzung der vorstehend referierten Arbeit hat L. WISH[2] eine *Trennungsmethode für Np-, Pu-, U-, Zr-, Nb- und Mo-Isotope in Produkten der Uranspaltung* aus salz-, salz- und fluß-, sowie aus salpetersauren Lösungen an Dowex-2 ausgearbeitet. Man bringt die Lösung der Spaltprodukte in konz. Salzsäure direkt ohne Trägerzusatz auf die Anionenaustauschersäule und eluiert mit der Säure bzw. der Säuremischung bei einer Ausflußgeschwindigkeit von 1 ml in 3—5 min. Es ließen sich so Np-239 und Nb-95 trennen, von denen das ^{239}Np vor dem ^{95}Nb mit 6,0 n Salz- und 0,004 n Flußsäure und anschließend das ^{95}Nb mit 6,0 n Salz- und 0,3 n Flußsäure eluiert wurde. Auch die Trennung Uran/Molybdän gelang aus 0,1 n salz- und 0,06 n flußsaurer Lösung; das Molybdän ließ sich anschließend mit 12 n Salpetersäure aus der Säule eluieren. Zr/Np/Nb-Gemische ließen sich wie folgt trennen: Man eluiert zunächst mit 12 n Salz- und 0,06 n Flußsäure das Zirkonium, anschließend mit 6,5 n Salz- und 0,004 n Flußsäure das Neptunium, und dann mit 6,0 n

Salz- und 0,06 n Flußsäure das Niob. Wäscht man die zwischendurch luftgetrocknete Säule mit Alkohol, so können anschließend Uran und Molybdän wie oben einzeln eluiert werden. Die Reinheit der abgetrennten Produkte ließ sich durch Vermessung des Spektrums der γ-Strahlen feststellen.

Die Verteilung der Uranspaltprodukte zwischen Phosphorsäurelösungen verschiedener Konzentrationen und Dowex-2 haben E. C. Freiling, J. Pascual und A. A. Delucchi[3] untersucht. Die Adsorption am Anionenaustauscher nimmt bei allen untersuchten Metallionen (Cs, Ce, Te, Np, U, Mo, Nb, Zr, Sr) zu, wenn die Phosphorsäurekonzentration fällt, Cs^+ und Te^{4+} werden aus verd. Phosphorsäurelösung (0,1 n) kaum adsorbiert (Verteilungskoeffizient 1—10); Sr^{2+}, Ce^{3+} und Ce^{4+} werden schwach adsorbiert alle anderen Metallionen werden aus 0,1 n Phosphorsäure stark adsorbiert (10^3—10^6), wobei die Verteilungskoeffizienten allerdings bis auf 10 sinken, wenn die Phosphorsäurekonzentration bis auf 10 n steigt.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 324—326 (1959). U. S. Naval Rad. Def. Lab., San Francisco, Calif. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **31**, 326—330 (1959). — [3] Analyt. Chemistry **31**, 330—331 (1959). Klaus Brodersen

Eriochromschwarz T und dessen Calcium- und Magnesium-Derivate. Nach eingehenden Untersuchungen von H. Diehl und F. Lindstrom[1] bildet Eriochromschwarz T bei p_H 8—10 mit Calcium- und Magnesiumionen Chelatkomplexe, die auf 1 Metallion nur 1 Molekül des Farbstoffes enthalten. Damit werden die Angaben von zwei amerikanischen Forschergruppen[2] zugunsten der ursprünglichen Ergebnisse von G. Schwarzenbach und W. Biedermann[3] korrigiert.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 414—418 (1959). State Coll. Ames, Jowa (USA). — [2] Harvey, A. E., jr., J. M. Komarmy u. G. M. Wyatt: Analyt. Chemistry **25**, 498 (1953); vgl. diese Z. **143**, 224 (1954). — Young, A., u. T. R. Sweet: Analyt. Chemistry **27**, 418 (1955). — [3] Helv. chim. Acta **31**, 678 (1948). Klaus Brodersen

Zur Mikrobestimmung von Wasser (0,1—3 mg) durch Titration mit Karl-Fischer-Reagens beschreiben E. L. Bastin, H. Siegel und A. B. Bullock[1] an Hand von mehreren Abbildungen eine Mikroapparatur. Die Verff. arbeiten mit den gleichen Konzentrationen der Lösungen wie bei der Makromethode[2], haben jedoch alle Gewichts-, Volumen- und Probemengen um das 100fache verkleinert. Die Genauigkeit der Mikromethode liegt bei $\pm$ 1% oder bei 3 μg H_2O, wenn weniger als 300 μg H_2O bestimmt werden. Der Endpunkt der Titration wird wie üblich mit der Dead-stop-Methode erkannt. Um Störungen durch Luftfeuchtigkeit zu vermeiden, wird mit einem trockenen Luft- oder Stickstoffstrom gespült.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 467—473 (1959). Shell Dev. Co., Emeryville, Calif. (USA) — [2] Peters, F. D., u. J. L. Jungnickel: Analyt. Chemistry **27**, 450 (1955); vgl. diese Z. **149**, 141 (1956). Klaus Brodersen

---

IV. Spezielle analytische Methoden

1. Analyse von Lebensmitteln

Über den qualitativen Nachweis kleinster Fluoridmengen in Wässern und Lebensmitteln[1] berichten K.-E. Quentin, J. Indinger und S. W. Souci[2]. Nach eingehender Prüfung verschiedener vorgeschlagener Verfahren wird die Ausbleichung des violetten Zirkonium-Hämatoxylin-Farblackes als sehr empfindliche Reaktion herangezogen. Von störenden Substanzen wird Fluor durch Destillation mit Schwefelsäure nach einer von Feigl[3] beschriebenen Versuchsanordnung

abgetrennt. Organische Substanzen werden vorher verascht. Das Destillat wird auf einer Tüpfelplatte mit 1 Tr. 50%iger Essigsäure und 1 Tr. Reagenslösung versetzt. Will man eine orientierende Schätzung durchführen, so werden einige Tüpfelteste in der gleichen Art mit Standard-Fluoridlösung angesetzt. Bei Anwesenheit von 0,2—0,5 μg Fluorid färbt sich der Fleck bräunlichrot. Bei höheren Konzentrationen wird die Färbung Hellgelb. Bei der quantitativen Auswertung ist zu beachten, daß bei dem Destillationsverfahren nur etwa $^1/_3$—$^1/_4$ der wahren Fluoridmenge erfaßt wird. Der p_H-Wert des Probetropfens soll bei 3 liegen. Es können mit dieser Methodik 5—250 μg Fluorid/ml nachgewiesen werden — *Reagenslösung.* 100 ml Hämatoxylin werden in 100 ml Wasser gelöst. Die Lösung muß mehrere Tage altern. 0,91 g Zirkoniumoxychlorid ($ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$) werden in 100 ml Wasser gelöst. Zur Herstellung des Farblackes werden 1 ml Hämatoxylinlösung mit 10 ml Zirkoniumlösung gemischt und auf 50 ml aufgefüllt. Das Reagens sollte mindestens 2 Tage vor Gebrauch gemischt werden. Bei Aufbewahrung im Kühlschrank ist es monatelang haltbar.

[1] Souci, S. W., K. E. Quentin u. J. Indinger: Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. **108**, 53 (1958); vgl. diese Z. **167**, 436 (1959). — [2] Z. Lebensmittel.-Unters. u. Forsch. **109**, 213—218 (1959). Univ. München und Dtsch. Forschungsanst. f. Lebensmittelchem. München. — [3] Feigl, F.: Spot Tests, Bd. I, S. 255. Elsevier Publ. Co. 1954. H. Zimmer

Auf Grund einer erlassenen Verordnung für die Bewertung von Raps und Rübsen werden von A. Seher[1] Methoden zur Bestimmung des *Besatzes* und *Fettgehaltes* vorgeschlagen. Hierbei soll für die Fettbestimmung die Probe nach Vortrocknung mit Sand verrieben werden, woran sich eine Extraktion mit Petroläther anschließt. Nach der Trocknung des Extraktionsgutes wird erneut vermahlen und nochmals extrahiert.

[1] Fette u. Seifen **61**, 16 (1959). Münster (Westf.) B. Rossmann

Als quantitative Methoden zur Bestimmung der Ranzigkeit von Pflanzenölen werden von B. A. J. Sedláček, A. Tichá und H. Vokurková[1] eine *colorimetrische Destillationsmethode mit 2-Thiobarbitursäure* (TBA-Methode) und die Bestimmung der *Peroxydzahl* verwendet. Verschiedene frisch raffinierte, kurz und länger gelagerte und schwach bis stark ranzige Öle wurden nach diesen beiden Methoden untersucht und die Werte mit den organoleptischen Eigenschaften der Öle verglichen. Mit der Verschlechterung der organoleptischen Eigenschaften steigen gleichzeitig die nach der TBA-Methode gefundenen Extinktionen und die Peroxydzahlen, während die Säurezahl nur wenig veränderte Werte zeigt. Es ist demnach ein Prozeß der oxydativen Ranzigkeit der Öle eingetreten. Es werden Grenzwerte der Extinktion und Peroxydzahl für frische, gelagerte und ranzige Öle vorgeschlagen. — *Arbeitsweise der TBA-Methode.* 5 g Öl werden in einem 500 ml-Rundkolben mit 100 ml Wasser, 5 ml 3 n Salzsäure und einigen Glaskugeln versetzt, und die Flüssigkeit wird so über einen 50 cm langen Liebig-Kühler destilliert, daß in 6 min 30 ml übergehen. Man vermischt 20 ml des Destillats mit 1 ml konz. Phosphorsäure (85%ig) und 1 ml Thiobarbitursäurelösung (siehe unten), erwärmt 35 min im siedenden Wasserbad und mißt die Extinktion der rosa bis rot gefärbten Lösung bei 530 mμ oder unter Anwendung eines Grünfilters in einem Colemanschen Universal-Spektrophotometer Modell 11 A gegen eine Blindprobe. — Zur *Herstellung der Thiobarbitursäurelösung* löst man 1 g Thiobarbitursäure in 50 ml Wasser und 2 ml 3 n Natronlauge unter Erwärmen, läßt abkühlen, versetzt mit 0,4 ml 3 n Salzsäure und füllt auf 100 ml auf. — Eine Tabelle im Original zeigt

einen Vergleich der organoleptischen Eigenschaften, der TBA-Methode, der Peroxydzahl und der Säurezahl von einigen raffinierten Pflanzenölen.

[1] Nahrung **2**, 655—659 (1958). Hygiene-Institut, Prag (ČSR).

HILDEGARD PLUSKAL

Den emissionsspektrographischen Nachweis von Spurenmetallen in Fetten behandeln K. TÄUFEL und K. BARTHEL[1]. Dieses Problem ist deshalb interessant, weil bei der fabrikatorischen Herstellung der Speisefette, diesen unter Umständen Metallspuren beigemengt werden, die erhebliche physiologische Bedeutung haben können. Für den spektrographischen Nachweis werden die Fette oder Öle in geeigneten Lösungsmitteln, wie z. B. Dioxan gelöst und dann mit Hilfe eines Zerstäubers durch eine achsiale Bohrung in der unteren Elektrode in die Entladungsstrecke eines Wechselstromkohlebogens in Pfeilsticker-Schaltung eingesprüht. Die Aufnahmen erfolgen mit einem Quarzspektrographen Q 24. Die Nachweisempfindlichkeiten sind etwa $5 \cdot 10^{-7}$ g *Kupfer*, sowie $5—10^{-6}$ g *Eisen* und *Nickel*/1 ml Öl.

[1] Fette u. Seifen **60**, 534—536 (1958). Dtsch. Akad. Wiss., Berlin.

J. VAN CALKER

Über die papierchromatographische Untersuchung der Kohlenhydrate geben F. SCHNEIDER und A. EMMERICH[1] einen Überblick. Die geeignetsten Trennungsmittel werden beschrieben und diskutiert. Die zum Sichtbarmachen der einzelnen Zucker bisher vorgeschlagenen Reagentien werden kritisch besprochen und die Möglichkeiten zur quantitativen papierchromatographischen Bestimmung werden erörtert. Die Eignung der papierchromatographischen Arbeitsweise für die Aufklärung bestimmter Probleme wird an Beispielen (z. B. Umlagerung nach LOBRY DE BRUYN und VAN EKENSTEIN) demonstriert.

[1] Stärke **11**, 1—7 (1959). Techn. Hochschule Braunschweig. L. ACKER

Zur enzymatischen spektrophotometrischen Bestimmung von Saccharose in U.S.P. Sirup nehmen J. P. COMER und H. F. BRICKLEY[1] eine Hydrolyse mit Salzsäure vor und ermitteln die gebildete Glucose durch Farbreaktion des Systems Glucoseoxydase/Meerrettich/Dianisidin. — *Enzymlösung.* Etwa 2900 E Glucoseoxydase, 1815 P_z E Meerrettichperoxydase, 0,125 g Dianisidincitrat (hergestellt durch Zugabe von Citronensäure zu einer ätherischen Dianisidinlösung), 0,200 g Citronensäuremonohydrat sowie 1,20 g Natriumcitratdihydrat werden in 500 ml Wasser gelöst und vor Gebrauch filtriert. Die Lösung ist bei Aufbewahrung im Kühlschrank 1 Woche haltbar. — *Arbeitsweise.* 5 ml Sirupverdünnung mit etwa 2 mg Glucose/ml werden mit 25 ml Wasser und 5 ml konz. Salzsäure 30 min auf einem Dampfbad erhitzt. Nach dem Abkühlen stellt man auf p_H 5,6 ein und füllt mit Wasser auf 100 ml auf. 1 ml der Auffüllung wird in einem Prüfgläschen mit 10 ml Enzymlösung (Pipette) und nach genau 10 min mit 1 ml Salzsäure (1 + 1) versetzt, umgeschüttelt und bei 400 mμ gegen einen analog angesetzten Blindwert (1 ml Wasser an Stelle der Probelösung) photometriert. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe einer Standardglucoselösung (0,2 mg Glucose/ml). Es ist wichtig, daß die verwendeten Prüfgläschen von gleicher Größe und die Reaktionszeiten bei Probe, Standard und Blindwert identisch sind. Bei stark gefärbten Sirupproben muß die Eigenfarbe berücksichtigt werden. Zu diesem Zweck versetzt man 1 ml der Probeauffüllung mit 1 ml Salzsäure (1 + 1) und bestimmt die Extinktion bei 400 mμ. — Bei 10 U.S.P. Sirupproben betrug die mittlere Abweichung $-0{,}2\%$ vom Sollwert.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 109—110 (1959). Eli Lilly and Co., Indianapolis, Ind. (USA). H. GARSCHAGEN

Der Dampfdruck des Alkohols im Dreikomponentensystem Äthanol-Wasser-Rohrzucker wird von E. Schulek, J. Trompler, L. I. Konkoly Thege und E. Pungor[1] im Hinblick auf eine analytische Anwendungsmöglichkeit in der *Genußmittelindustrie* bestimmt. Der Dampfdruck ist größer als im binären System Wasser/Alkohol und in dem früher untersuchten ternären System Äthanol/Wasser/Perchlorsäure, das gegenüber dem binären System eine erhebliche Erniedrigung der Alkoholtension zeigt. Viscositätsmessungen ergeben eine Erhöhung der Viscosität durch Rohrzucker; die Viscositätskurven des binären und ternären Systems besitzen allerdings gleichen Charakter. Die naheliegende Deutung der Meßwerte wird nicht diskutiert.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1959**, 22—25. L. Eötvös Univ., Budapest (Ungarn). H. Specker

Für die Bestimmung von Methoxyhydrochinon-Glykosiden (MG) in Weizen hat D. G. H. Daniels[1] folgendes colorimetrische Verfahren ausgearbeitet: *Zur Aufstellung der Eichkurve* verwendet man eine Standardlösung von 72 μg reinem Methoxyhydrochinon-β-glucosid (entsprechend 32,4 μg Methoxyhydrochinon) in 1 ml. Man verdünnt die 0—65 μg MG entsprechenden Mengen der Standardlösung mit 2 ml Boratpuffer von p_H 9,4 nach W. R. Fearon[2], füllt mit Wasser auf 5 ml auf und gibt zu dieser Verdünnung 0,2 ml einer 0,25%igen Lösung von *2,6-Dichlorchinon-4-chlorimid* in Äthanol, läßt 16 Std lang im Dunkeln bei 20° C stehen und schüttelt den inzwischen entstandenen, blauen Farbstoff mit 12 ml 1-Butanol aus. Nach 30 min langem Absetzen pipettiert man die Butanolphase ab, zentrifugiert sie, stabilisiert den Farbstoff gegen Kohlensäureeinwirkung durch Zusatz von 0,5 ml 0,01 n alkoholischer Natronlauge und ermittelt die Lichtabsorption in einem Spekker-Absorptiometer in 2 cm-Küvetten mit Ilford-Filter Nr. 607, welches für Licht von 600 mμ maximal durchlässig ist. Pyridoxin und Thiamin ergeben unter gleichen Bedingungen keine Farbstoffbildung. Innerhalb der angegebenen Konzentration an MG entsprechen die Extinktionen dem Beer-Lambert-Gesetz. — *Zur Bestimmung von MG in Weizenkörnern* zerkleinert man diese in einer Mühle, siebt sie (40 mesh), extrahiert das Pulver mit so viel Boratpuffer von p_H 9,4, daß der Auszug 5—50 μg MG in 2 ml enthält und verfährt wie beschrieben. Um die Verteilung des MG in dem Weizenkorn zu lokalisieren, können diese mit einer Rasierklinge zerschnitten und die Teilstücke untersucht werden. Die Erfassungsgrenze für MG beträgt 88—98%.

[1] Cereal Chem. **36**, 32—41 (1959). Res. Assoc. Brit. Fluor-Millers, St. Albans (England). — [2] Biochemic. J. **38**, 399 (1944). K. Söllner

Zur Bestimmung des Natrium- und Kaliumgehaltes von salzarmen Backwaren verfährt Th. M. Meijer[1] im wesentlichen nach der Methode von J. Beukenkamp und Mitarb.[2] bei der Na und K an Dowex 50 voneinander getrennt und dann über den Chloridgehalt quantitativ bestimmt werden. Verf. arbeitet allerdings mit Dowex 50-X4 (200—400 mesh) (59,5 g für eine Säule von 28 cm Länge und 3 mm Breite). Man gibt auf die Säule eine Lösung von 1 mMol Dinatriumphosphat und 1 mMol Kaliumphosphat in 5 ml 0,7 n Salzsäure, eluiert mit 0,7 n Salzsäure bei einer Geschwindigkeit von 1,6 ml/min und fängt in Fraktionen von 50 ml auf. Der Gehalt an Alkalichlorid wird durch Eindampfen der Fraktionen, Trocknen bei 140° C und Titration nach Mohr mit 0,01 n Silbernitratlösung bestimmt, nachdem noch anwesende Säure bestimmt worden ist. Sulfat und Phosphat werden zuerst eluiert. Nach 410 ml kommen die Fraktionen die Na enthalten, von 625 bis 950 ml die K-Fraktionen. Die Eluate bis 350 ml werden verworfen. Bei Backwaren werden 8 g verascht in Gegenwart von etwas konz. Schwefelsäure. Der Rückstand

der Sulfatasche wird mit verdünnter Salzsäure behandelt, zur Trockne gedampft und 15 min bei 140° C getrocknet. Der Rückstand wird in 5 ml 0,7 n Salzsäure gelöst und dann auf die Säule gebracht. Man verfährt wie oben beschrieben.

[1] Voeding **19**, 718—721 (1958). Koninklijke Verkade Fabrieken, Zaandam (Holland). — [2] Beukenkamp, J., u. W. Rieman III: Analyt. Chemistry **22**, 582 (1950). — Sweet, R. C., W. Rieman III und J. Beukenkamp: Analyt. Chemistry **24**, 952 (1952); vgl. diese Z. **133**, 211 (1951); **138**, 429 (1953). L. Acker

Milch. *Zur Untersuchung von Milch auf Rotenoide* haben M. Jacobson, I. Hornstein und R. T. Murphy[1] ein Verfahren entwickelt. — Das Milchfett wird dabei in Hexanlösung übergeführt und mit einer Mischung aus 2 Volumteilen Acetonitril und 1 Volumteil 1%iger Natriumsulfatlösung behandelt. Von dem dabei entstehenden Dreiphasensystem werden die beiden unteren Schichten in einen anderen Scheidetrichter übergeführt. Die vereinigten Acetonitrilextrakte werden mit Hexan gewaschen, mit Chloroform ausgezogen; dieser Extrakt wird in CCl_4-Lösung übergeführt und in dieser Form an einer Al_2O_3-Säule chromatographiert. Durch Elution mit einer Lösung von 1% Acetonitril in CCl_4 werden zunächst die Verunreinigungen entfernt. Dann werden die Rotenoide mit 5% Acetonitril in CCl_4 eluiert. In der die Rotenoide enthaltenden Fraktion wird das UV-Spektrum aufgenommen. *Rotenon* hat sein Absorptionsmaximum bei 290, *Dehydrorotenon* bei 280 nm. Diese Fraktion wird papierchromatographisch aufgetrennt mit Methanol/Benzol/Wasser (5:1:1). Die Rotenoide werden mit 1%iger $KMnO_4$-Lösung sichtbar gemacht. 3 μg sollen sich auf diese Weise noch nachweisen lassen. Einzelheiten im Original.

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **42**, 174—176 (1959). US. Dept. Agric., Beltsville, Md. (USA). L. Acker

Eine papierchromatographische Methode zur Bestimmung von N,N'-Diphenyl-p-phenylendiamin (DPPD) in Milch hat B. A. Dehority[1] ausgearbeitet. Die Milch wird gefriergetrocknet, das trockne Material mit Äther ausgezogen, der Ätherextrakt mit alkoholischer Kalilauge verseift, das Unverseifbare abgetrennt und zu 0,2 ml in Benzol gelöst. Man trägt auf Whatman-Papier Nr. 1 auf und entwickelt aufsteigend mit 80%igem Methanol. Nach dem Trocknen wird das Papier zum Sichtbarmachen mit konz. Salpetersäure besprüht. DPPD zeigt sich bei einem R_f-Wert zwischen 0,75 und 0,80 als roter Flecken an. Zur quantitativen Bestimmung wird der einem R_f-Wert zwischen 0,70 und 0,85 entsprechende Streifen aus dem Chromatogramm herausgeschnitten. Das fein zerschnittene Papier übergießt man mit 12 ml konz. Salpetersäure in einem verschließbaren Glas, schüttelt 75 sec kräftig, filtriert durch Glaswolle unmittelbar in ein Evelyn-Rohr und bestimmt in einem Evelyn-Colorimeter 2 min nach Zugabe der Salpetersäure die Extinktion bei 490 mμ. Die Konzentration wird aus einer unter den gleichen Bedingungen aufgestellten Eichkurve (Bereich 5—25 μg) abgelesen.

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 81—83 (1959). Agric. Exp. Stat., Storrs, Conn. (USA). L. Acker

J. Pien[1] teilt ergänzend zu seiner Arbeit über die *biologische Identifizierung von Antiseptica und Antibiotica in Milch mittels lyophilierter, resistenter Bakterienstämme*[2] mit, daß er mit Streptococcus lactis außer für die in der zitierten Arbeit angeführten Antiseptica auch für *Aureomycin*, *Penicillin* und *Streptomycin* die Toxicitätsgrenze, also die Konzentration, bei der eine Schwächung der Milchfermentation zu beobachten ist, und die Inhibierungsdosis, nämlich die Konzentration, bei der die Milchfermentation völlig unterbrochen wird, feststellen konnte.

Beim Einsatz von Lactobacillus acidophilus gelangen ihm die gleichen Feststellungen mit *Aureomycin, Chloramphenicol, Erythromycin, Neomycin, Penicillin, Spiramycin, Streptomycin, Terramycin* und *Tetracyclin* (Tabelle im Original). Ohne experimentelle Angaben zu machen, teilt Verf. mit, daß die angeführten Methoden auch auf *andere Nahrungsmittel* anwendbar sind.

[1] Ann. Falsificat. Fraudes **51**, 409—411 (1958). — [2] Ann. Falsificat. Fraudes **46**, 258 (1953). K. Söllner

Vitamine. *Über die chromatographische Trennung und Bestimmung von Thiamin und Thiaminphosphorsäureestern an Ionenaustauschern* berichten L. de Giuseppe und G. Rindi[1]. Nach ihren Erfahrungen soll die von D. Siliprandi und N. Siliprandi[2] angegebene Behandlung an einen schwachen Kationenaustauscher (Amberlite IRC 50) Thiamintriphosphat (TTP) und Thiamindiphosphat (TDP) schlecht voneinander trennen. Die Verff. ziehen Dowex-1 X-8 (200—400 mesh) vor, das sie in der Borat- und Acetatform in zwei übereinanderliegenden Säulen verwenden. Das auf die obere Säule aufgegebene Gemisch von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern wird mit 0,03 m Borsäure behandelt. Dabei wird Thiamin sofort ausgewaschen, Thiaminmonophosphat (TMP) aber von der unteren Säule festgehalten, die anderen Ester bleiben auf der oberen Säule. Dann werden die Säulen auseinandergenommen. TMP wird mit 0,1 m NaCl-Lösung in 0,1 m Salzsäure eluiert. TDP wird aus der oberen Säule mit 0,02 m Natriumacetatlösung in 0,04 m Essigsäure herausgewaschen, TTP durch 0,1 m Salzsäure.

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **1**, 545—551 (1958). Univ. Pavia (Italien). — [2] Biochim. biophysica Acta **14**, 52 (1954); vgl. diese Z. **143**, 381 (1954). L. Acker

Für die chemische Bestimmung von Riboflavin in Lebensmitteln ziehen B. Gassmann und K. Täufel[1] die Lumiflavinmethode vor. Sie haben in ausgedehnten Untersuchungen an reinen Lösungen oder an Lebensmittelauszügen die Lumiflavinausbeute in Abhängigkeit von der Alkalität, der Bestrahlungsintensität und -dauer sowie der Konzentration studiert. Bei einer Alkalität von 0,75 n erreicht sie einen Höchstwert, der bis zu 3 n konstant bleibt. Weiterhin ist optimal eine Bestrahlung von 15 min Dauer mit einer 250 Wattlampe (zur Bestrahlung kommen 15 ml in einer flachen Schale von 5,5 cm ⌀ bei einem Abstand Lampenwendel-Schalenboden von 30 cm). Die Konzentration des Riboflavins hat keinen Einfluß auf die Ausbeute. Phosphorsäureesterbindungen des Riboflavins beeinflussen die Photolyse nicht. Zur Erhöhung der Spezifität des Meßverfahrens wird eine Blaulichtanregung empfohlen (beim Lumetron Filter mit Schwerpunkt bei 400 mμ; beim Pulfrichphotometer die Kombination BG 12 + GG 15 in 2 mm Stärke). Die Berechnung erfolgt zweckmäßig mit Hilfe eines inneren Standards (Zusatz an bekannten Mengen Riboflavin vor der Bestrahlung).

[1] Nahrung **2**, 450—463 (1958). Inst. f. Ernährung, Potsdam-Rehbrücke. L. Acker

Mit der chemischen Bestimmung von Riboflavin in Lebensmitteln haben sich auch weiter B. Gassmann und H. Plessing[1] beschäftigt. Sie sind zu dem Ergebnis gekommen, daß die Lumiflavinmethodik dem auf der Messung der Riboflavinfluorescenz beruhenden Verfahren vorzuziehen ist. Bei der Lumiflavinmethode ist eine vollständige Hydrolyse der 3 Wirkungsformen: Riboflavin, Riboflavin-5′-phosphat und Flavinadenindinucleotid nicht notwendig. Man kommt daher bei der Vorbehandlung mit einem Salzsäure-Druckaufschluß und anschließender kurzer Diastasebehandlung aus. — *Arbeitsweise.* Das etwa 15—100 μg Riboflavin enthaltende Material zerkleinert man in einem abgedunkelten Raum, versetzt in einem 300 ml-Kolben mit 150 ml 0,1 n Salzsäure und autoklaviert 30 min bei

121° C. Nach Abkühlen auf 45° C stellt man mit 5—7 ml 3,7 m Natriumacetatlösung auf einen p_H-Wert zwischen 4,5 und 5,4 ein und bebrütet mit 2 g Diastase (Merck) $^1/_2$ Std bei 45° C. Nach Abkühlen auf 20° C wird mit Wasser auf 250 ml aufgefüllt und filtriert, wobei die ersten 10 ml verworfen werden. Aliquote Teile werden mit Chloroform (fluorescenzfrei) im Verhältnis 1:1,5 ausgeschüttelt und zur Trennung zentrifugiert. Von der wäßrigen Phase werden in mindestens 2 flache Abdampfschalen je 10 ml pipettiert (von hier an möglichst Parallelbestimmungen). Zur halben Anzahl der Schalen gibt man entweder 2 ml Riboflavinstandardlösung (25 mg Riboflavin, über konz. H_2SO_4 getrocknet, werden in einem 1 l-Braunglaskolben in 750 ml Wasser und 1,5 ml Eisessig unter Erwärmen gelöst und nach Abkühlen auf 1 l aufgefüllt [mit einigen Tropfen Toluol überschichten und im Kühlschrank aufbewahren]; 10 ml dieser Stammlösung werden auf 250 ml mit Wasser verdünnt [1 μg/ml]) oder 2 ml Wasser, dann zu allen Schalen tropfenweise im Überschuß 3%ige Kaliumpermanganatlösung. Den Überschuß nimmt man nach 1 min durch tropfenweise Zugabe von 1,7%iger H_2O_2-Lösung zurück. Unter kräftigem Durchmischen läßt man schnell in jede Schale 2 ml 7 n Natronlauge einfließen und bestrahlt sofort 30—45 min mit einer 500 Wattlampe (Abstand Lampenwendel—Schalenboden 30 cm). Nach Ansäuern mit 2 ml Eisessig fügt man 0,3 ml 3%ige Kaliumpermanganatlösung zu, oxydiert etwa 1 min und entfernt den Überschuß mit 0,3 ml 1,7%iger H_2O_2-Lösung. Man spült dann in Zentrifugengläser mit Schliffstopfen über, wäscht mit 5 ml Wasser nach, versetzt jedes Glas mit 30 ml Chloroform, schüttelt einige Male und zentrifugiert. Nach Absaugen der wäßrigen Schicht trocknet man die Chloroformschicht mit etwa 2 Spatelspitzen Na_2SO_4, zentrifugiert und mißt die Fluorescenz photoelektrisch im Lumetron in 25 ml-Küvetten. Reagentien-Blindversuche sind parallel mitzuführen. Primärfilter: BG12 + GG15; 2 mm; VEB Schott, Jena. Sekundärfilter: BG21 + GG11; VEB Schott, Jena. Vergleichslösung Fluorescein; 1 μg/ml.

$$\textit{Berechnung.}\ \text{Riboflavin in } \mu\text{g}/100\text{ g} = \frac{(T-B)\,50\cdot 100}{(S-T)\cdot E}\,.$$

T = Test, B = Reagentienblindwert, S = Standard = Zusatzversuch, E = Einwaage in Grammen. Zur visuellen Fluorescenzmessung eignet sich die von H. Roth[2] angegebene Kombination von Pulfrich-Photometer und Hanauer Analysenquarzlampe. Dabei müssen 250 ml Extrakt mindestens 30 μg Riboflavin enthalten. Bei gleichem Primärfilter dient als Sekundärfilter K_5; 5 cm-Küvetten, Vergleichslösung: Lumiflavin in Chloroform 0,5 μg/ml oder Fluoresceinlösung 0,5 μg/ml. — Die nach diesem Verfahren erhaltenen Ergebnisse stimmen gut mit mikrobiologischen Analysen überein. Zeitbedarf bei 8 Meßwerten: 2 Bestimmungen in 8 Std. Variabilitätskoeffizient 3,2%.

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **109**, 135—145 (1959). Dtsch. Akad. Wiss., Berlin. — [2] Z. Vitaminforsch. **19**, 309 (1948). — Biochem. Z. **320**, 355 (1950); vgl. diese Z. **130**, 94 (1949/50); **132**, 229 (1951). L. Acker

Die biologische Vitamin D-Bestimmung, wie sie im Institut für Ernährung in Potsdam-Rehbrücke durchgeführt wird, beschreibt H. Ackermann[1]. Man bevorzugt den prophylaktischen Test; Tiere eigener Zucht werden für zweckmäßig gehalten. Die Tiere sollen gleiches Gewicht (40—50 g) und gleiche Wachstumsintensität zeigen. Schnell wachsende Tiere werden ausgesondert. Männchen und Weibchen werden im gleichen Verhältnis am Test beteiligt. Ein Tag vor Versuchsbeginn werden die Tiere in Gemeinschaft an das Versuchsfutter gewöhnt. Dann werden sie einzeln in Glaskästen untergebracht. Die rachitogene Kost wird in dickbreiiger Form, zu Kugeln geformt, verabreicht. Jedes Präparat sowie die

Standardlösung werden an 4 Gruppen zu je 10 Tieren verfüttert. Bei täglicher Applikation werden 0,2, 0,4, 0,8 und 1,6 iE Vitamin D_2 in 0,1 ml Öl angewendet. Außerdem gibt es bei jedem Versuch eine Kontrollgruppe, die lediglich das rachitogene Futter erhält. Feste Substanzen werden in Form von Pillen verabreicht oder man extrahiert das Vitamin mit Äther nach Aufschluß mit alkoholischer Kalilauge. Die Testlösungen werden mittels Schlundsonde gegeben (vorzugsweise 3malige Applikation in 2tägigem Abstand). Am 7. Tag werden die Tiere getötet und die Kniegelenke der hinteren Extremitäten geröntgt. Der Rachitisgrad, unterteilt von 1—5, wird an Hand der Beschaffenheit und Breite des Epiphysenspaltes beurteilt. Die Berechnung des Vitamin D-Gehaltes erfolgt dann nach B. Bährecke und H. Gebauer[2].

[1] Nahrung **2**, 583—587 (1958). Inst. Ernähr. Potsdam-Rehbrücke, Dtsch. Akad. Wiss. Berlin. — [2] Pharmazie **12**, 592 (1957); vgl. diese Z. **164**, 285 (1958).

L. Acker

Eine chemische Methode zur Bestimmung von Vitamin D in Kondensmilch ist von S. W. Jones, W. W. Morris und J. B. Wilkie[1] in Anlehnung an eine für pharmazeutische Produkte entwickelte Methode[2] angegeben worden. Die Lipide werden mit Äther extrahiert und dann mit einem Gemisch aus Äthanol und 50%iger Kalilauge (150 + 60) 45 min am Rückfluß gekocht. Die verseifte Mischung wird mit Äther extrahiert. Der Rückstand wird in Petrolätherlösung an zwei Säulen aus MgO und Hyflo Supercel chromatographiert. Diese Behandlung dient der Abtrennung des Vitamins D von Vitamin A und einigen seiner Zersetzungsprodukte. Die Chromatographie an einer dritten Säule aus Al_2O_3 dient der weiteren Reinigung. Trotzdem können nicht alle störenden Zersetzungsprodukte abgetrennt werden, so daß von der zur Bestimmung führenden Reaktion eine gewisse Spezifität erwartet werden muß. Die $SbCl_3$-Farbreaktion mit Vitamin D wird nun von Acetanhydrid spezifisch unterdrückt, während unter den gleichen Bedingungen die Zersetzungsprodukte reagieren. Dadurch läßt sich unter Verwendung der Extinktionen bei 500 und 550 mμ der Anteil an Zersetzungsprodukten rechnerisch ausschalten. Die Methode wird im einzelnen ausführlich beschrieben, ihre Brauchbarkeit mit Tabellen belegt.

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **42**, 180—186 (1959). Food a. Drug Admin., Washington, D. C. (USA). — [2] Wilkie, J. B., S. W. Jones u. O. L. Kline: Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **47**, 385 (1958); vgl. diese Z. **166**, 452 (1959). L. Acker

Die chemische Vitamin E-Bestimmung führt W. Feldheim[1] nach der Methode von A. Emmerie und C. Engel[2] durch. Die einzelnen Schritte werden genau beschrieben. Die Proben werden ohne vorherige Extraktion unmittelbar mit 2 n alkoholischer Kalilauge in Gegenwart von Stickstoff und bei einer Badtemperatur von 70° C verseift. Das Unverseifbare wird mit peroxydfreiem Äther ausgeschüttelt, und in benzolische Lösung übergeführt. Zur Entfernung störender Begleitsubstanzen wird an einer Säule aus nicht vorbehandelter Floridinerde chromatographiert, die mit konz. Salzsäure unter Zusatz von $SnCl_2$ aktiviert worden ist. Die Bestimmung erfolgt nach Oxydation mit $FeCl_3$ über die Farbreaktion des gebildeten Fe^{2+} mit 2,2′-Dipyridyl.

[1] Nahrung **2**, 615—621 (1958). Dtsch. Akad. Wiss., Berlin. — [2] Recueil Trav. chim. Pays-Bas **57**, 135 (1938); **58**, 283, 895 (1939); vgl. diese Z. **123**, 56 (1942).

L. Acker

Zur Bestimmung der Sorbinsäure in Konserven pflanzlichen Ursprungs eignet sich nach Feststellungen von A. Poretta[1] die spektrophotometrische Methode von D. Melnick und F. H. Luckmann[2] nach Einführung einiger Abänderungen.

Bisher liefert sie nämlich je nach Destillationsbedingungen zu hohe und verschiedene Werte, da die in Nahrungsmitteln natürlich vorkommenden flüchtigen Produkte von mehr oder weniger starker Absorption im UV nicht abgetrennt werden. Es wird daher folgende *Arbeitsweise* empfohlen: Die Einwaage des gut homogenisierten Produkts mit 2—3 mg Sorbinsäure bringt man mit 50 g Magnesiumsulfat, 1 g Citronensäure und 50 ml dest. Wasser in einen 500 ml-Kolben, den man mittels eines Schliffverbindungsstückes an einen Friedrich-Kühler anschließt. Die Destillationsapparatur muß aus dunklem Glas sein, um die photochemische Oxydation der Sorbinsäure zu vermeiden. Sonst ist im gedämpften Licht zu arbeiten. Man destilliert zuerst etwa 40—45 ml ab. Nach dem Auskühlen versetzt man den Kolbeninhalt mit nochmals 50 ml dest. Wasser, destilliert weitere 50 ml ab, wäscht den Kühler mit dest. Wasser, vereint beide Destillate und das Waschwasser und verdünnt im Meßkolben auf 200 ml. 20 ml dieser Lösung werden nach dem Ansäuern mit 0,5 ml konz. Schwefelsäure 2mal mit je 50 ml Äther ausgeschüttelt. Zur Entfernung von Spuren Schwefelsäure wäscht man mit einigen Millilitern dest. Wasser und schüttelt den Extrakt wenigstens 2 min mit 20 ml 0,1 n Natronlauge. Die wäßrige Phase trennt man in ein 100 ml-Becherglas ab, wäscht die Ätherlösung mit Wasser, dem einige Tropfen 0,1 n Natronlauge zugefügt wurden, nach und erwärmt die vereinigten Lösungen zur Beseitigung von Ätherresten. Die so erhaltene Lösung verdünnt man im Meßkolben auf 100 ml und bestimmt die Absorption bei 240, 250, 256, 260, 270 und 280 nm mit einem Beckman-Spektralphotometer (1 cm-Quarzküvette gegen 0,1 n Natronlauge). Zur Identifizierung der Sorbinsäure dient die Kurve, die man durch Auftragen des Verhältnisses der Absorption bei den verschiedenen Wellenlängen und der Maximalabsorption bei 254 nm (Lösungs-p_H 11,4) gegen die entsprechenden Wellenlängen erhält. Die durch Auftragen der Absorption bei 254 nm gegen die Konzentration (man benutzt hierzu eine Sorbinlösung von 2 μg/ml) konstruierte Eichkurve ist linear. Auf die beschriebene Weise erhält man reproduzierbare und wesentlich genauere Werte. Die durch die doppelte Extraktion bedingten geringen Sorbinsäureverluste von etwa 5% werden durch Spuren von Substanzen kompensiert, die bei der Absorptionbestimmung stören.

[1] Industr. conserve **33**, 8—10 (1958). Stazione sperim. Ind. Conserve Alimentari, Parma (Italien). — [2] Food Res. **19**, 20 (1954). H. Freytag

Öllösliche Lebensmittelfarben bestimmt man nach E. Mark und G. G. McKeown[1] papierchromatographisch. Das Papier wird mit einer 5%igen (G/V) ätherischen Mineralöllösung getränkt und an der Luft getrocknet. Die fettfreien Farbstofflösungen werden auf der Startlinie aufgetragen. Jeder Fleck soll etwa 1 cm ∅ haben und 10 μg Farbstoff enthalten. Absteigend wird mit Aceton/Wasser (5:5 oder 6:4 oder 7:3) chromatographiert. Auch andere Laufmittel wie Äthanol/Wasser (7:3 oder 6:4 oder 5:5) oder Pyridin/Wasser (6:4 oder 5:5 oder 4:6) sind brauchbar. R_f-Werte für alle genannten Laufmittel werden für 9 Farbstoffe angegeben. Die Farbzonen können ausgeschnitten und mit Alkohol eluiert werden; ihr Gehalt läßt sich mittels Vergleichslösungen spektralphotometrisch ermitteln.

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **42**, 213—214 (1959). Dpt. Nat. Health Welfare Ottawa, Ont. (Canada). B. Rossmann

Für die papierchromatographische Untersuchung der Begleitstoffe von Lebensmittelfarbstoffen beschreiben J. Eisenbrand und B. Koether[1] die Verwendung einer neuen Entwicklungskammer. 36 Farbstoffe, die als Lebensmittelfarbstoffe verwendet werden, wurden untersucht, wobei p-Äthoxydiamino-Acridinlactat als Vergleichssubstanz diente. Die Begleitstoffe waren entweder verwandte Farbstoffe

oder im UV-Licht fluorescierende Substanzen. Bei längerem Liegenlassen der Chromatogramme am Tageslicht traten bei einer Anzahl von Farbstoffen Veränderungen ein, die auf dem Entstehen oder Verschwinden von Begleitstoffen beruhen. — *Arbeitsweise.* Die chromatographische Entwicklung fand auf Papier Nr. 2043b (Schl. & Sch.) mit dem Fließmittel nach N. THALER und G. SOMMER[2] (5%iges Ammoniak, 2%ig an tertiärem Natriumcitrat) bei 20 ± 0,1° C statt. Die Sättigungszeit betrug 16 Std, die Fließzeit 3,5 Std. Der Aufbau der Entwicklungskammer geht aus Abb. 1 hervor.

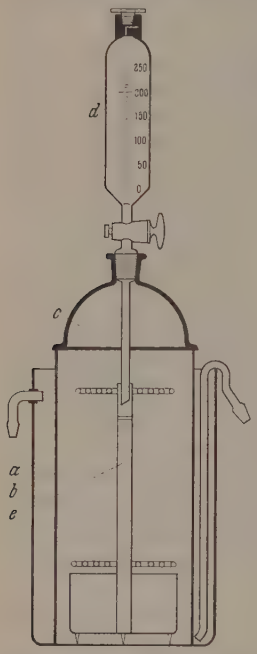

Abb. 1. Apparatur zur papierchromatographischen Serienanalyse nach EISENBRAND u. KOETHER. *a* äußerer Zylinder; *b* innerer Zylinder; *c* Glasglocke; *d* gradierter Tropftrichter; *e* Spiraleinsatz

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **109**, 218–222 (1959). Chem. Untersuchungsamt f. d. Saarland, Saarbrücken. — [2] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **97**, 345 (1953); vgl. diese Z. **144**, 279 (1955).

D. JENTZSCH

3. Analysenmethoden auf dem Gebiete der Pharmazie

Ein Verfahren zur Bestimmung der Bestandteile pharmazeutischer Präparate mittels Ionenaustausch und Spektralphotometrie entwickeln E. HÄBERLI und E. BÉGUIN[1] als Routinemethode. Es wird nur je ein Kationenaustauscher (Dowex 50-X-2) und ein Anionenaustauscher (Dowex 1-X-1) benutzt. Störende Bestandteile werden durch „backwash" entfernt. Die einfache Apparatur ist durch Abbildungen veranschaulicht. Die Absorption wird durch Schütteln mit dem Austauscher erreicht. Dieser muß in die jeweilige Form vorbereitet und spektralrein gewaschen sein. Für zahlreiche Beispiele sind Arbeitsvorschriften angegeben. Die Eluate werden spektrophotometrisch bei angegebenen Wellenlängen gemessen und daraus mittels Eichkurven die Gehalte der gesuchten Substanzen berechnet. In einigen wenigen Fällen werden die gesuchten Stoffe durch Reaktionen in Farbstoffe umgewandelt, von denen dann ebenfalls die Extinktionen bei bestimmten Wellenlängen gemessen werden. — Es wurden untersucht: Folia belladonnae, Fol. Stramonii, Fol. Hyoscyami auf *Atropin*, *Hyoscyamin* und *Scopolamin*. Die Chinaalkaloide lassen sich in die *Chinin-* und *Cinchonin*fraktionen trennen. Chininhaltige Zubereitungen lassen sich leicht bestimmen. Auch für die Ermittlung von *Strychnin*, *Brucin* und der *Ipecacuanha-Alkaloide* wie *Emetin* und *Cephaelin* ist die Methode brauchbar. *Reserpin* und *Yohimbin* sind in Dragees oder Tabletten genau zu ermitteln. *Barbitursäuren* lassen sich neben *Dimethylaminophenazon* bestimmen. Die Purinderivate werden bis auf Theophyllin von den Austauschern nicht zurückgehalten. Dies bedeutet daher eine Trennungsmöglichkeit von anderen Arzneistoffen. Die Anwendung auf Tabletten mit 3–5 Komponenten beweist die Brauchbarkeit des Verfahrens.

[1] Pharmac. Acta Helvetiae **34**, 65–78 (1959). Siegfried AG, Zofingen (Schweiz).

B. ROSSMANN

Die Identifizierung von Barbituraten durch Bestimmung ihrer Röntgenstrahlen-Diffraktion führt P. P. Williams[1] durch. Man löst schmelzpunktsreine 5,5-substituierte Barbitursäure-Derivate in Äther und läßt die Lösungen langsam bei Raumtemperatur verdunsten, wodurch man ausreichend große Kristalle für die Röntgen-Aufnahme erhält. Diese führt man zweckmäßig mit einem Norelco-Weitwinkel-Geiger-Diffraktometer unter Verwendung filtrierter Kupfer-Strahlen ($CuK\alpha = 1{,}5418$ Å) aus. Das Verfahren ist auch für *toxikologische Untersuchungen* anwendbar[2]. Die Arbeit enthält eine Tabelle mit den Röntgenstrahlen-Diffraktionen der 20 meist angewendeten Barbiturate.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 140—143 (1959). Dominion Lab., Wellington (Neu-Seeland). — [2] Simmons, J. S., u. C. J. Gentskow: Medical and Public Health Laboratory Methods, p. 549. Henry Kimpton, London, 1955. K. Söllner

Für die Durchführung der quantitativen Bestimmung von 2,2′-Dihydroxy-3,3′, 5,5′,6,6′-trichlordiphenylmethan (Hexachlorophen, H) in verschiedenen Zubereitungen teilt K. Klinge[1] seine Arbeiten über eine colorimetrische (A) und eine direkte photometrische (B) Methode mit. — *Aufstellung einer Eichkurve. A.* Man versetzt Lösungen von 0—80 μg H in 5,0 ml 0,025%iger Natriumcarbonatlösung mit 0,5 ml 2%iger wäßriger Aminoantipyrinlösung, 10,0 ml 0,055 m Borax-Kaliumhydrogenphosphat-Pufferlösung vom p_H-Wert 7,8 und 9,5 ml 0,025%iger wäßriger Natriumcarbonatlösung, schüttelt unmittelbar nach Zugabe von 0,25 ml 8%iger wäßriger Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung 1 min lang, schwenkt nach 3 min um, füllt nach 4,5 min in eine Küvette um und bestimmt genau 5 min nach Zusatz des $K_3Fe(CN)_6$ in einem Elko II mit Filter S49 E54 die Extinktion der Ansätze gegen Wasser als Leerwert (Eichkurve und Absorptionsspektrum im Original). Die Extinktion von 1 μg H beträgt in diesem Milieu 0,00289, die Standardabweichung im Durchschnitt 2,3 μg H. — *B.* Man löst 1 mg H in 100 ml 0,1%iger Natronlauge, stellt durch Verdünnung dieser Stammlösung mit derselben Lauge unterschiedliche Konzentrationen von H her und ermittelt deren UV-Absorption in einem Spektralphotometer PM Q (Zeiß) bei 320 mμ gegen 0,1%ige Natronlauge als Blindwert. Der Extinktionskoeffizient 1%/1 cm beträgt 301,82. Für die Bestimmung von H *in Peptonwasser* mit verschiedenen Zusätzen oder *in Bouillon* versetzt man 20 ml des Analysenmaterials mit 5,0 ml 0,1%iger Natronlauge und verfährt weiter wie bei A oder B. H-Lösungen *in Natriumoleat* verdünnt man im Verhältnis 1:5 mit 0,1%iger Natronlauge und arbeitet ebenfalls nach A oder B. Liegt H *in Stückseifen* vor, so löst man 0,1 g des feingeschabten Materials in einem Gemisch von 10 ml Äthanol und 5 ml 0,1%iger Natronlauge bei 60—80° C, verdünnt nach völliger Lösung mit 25 ml Natronlauge, füllt mit Wasser auf 100 ml auf und verwendet je 1,0 ml dieser Lösung zur Analyse nach A oder B (mathematische Bearbeitung und Tabellen im Original).

[1] Seifen-Öle-Fette-Wachse **85**, 61—64; 87—88 (1959). Hyg.-Bakteriol. Inst., Univ. Erlangen. K. Söllner

Zur Reinheitsbestimmung von ω-Chloracetylbrenzcatechin(I) und Monomethylaminhydrochlorid(II) haben J. Inczédy und J. Sztrókay[1] maßanalytische Verfahren ausgearbeitet. — *Arbeitsweise für I.* Man wägt 0,3 g des Untersuchungsmateriales in einen 200 ml-Titrierkolben, löst in 10—20 ml Äthanol, gibt 2—3 Tr. 0,1%ige Bromphenolblaulösung in 20%igem Alkohol zu und fügt, falls sich der Indicator gelb färbt, tropfenweise 0,1 n Natronlauge zu, bis zur Übergangsfarbe. Nun gibt man eine Lösung von 1 g Hydroxylaminhydrochlorid in 20 ml Wasser, die nach Zusatz von 1 Tr. Indicatorlösung mit 0,1 n Natronlauge neutralisiert worden war, zu, steckt in die Öffnung des Kolbens einen kleinen Trichter, erhitzt den Ansatz 15 min lang auf dem siedenden Wasserbad, kühlt und titriert mit

0,1 n Natronlauge auf die Zwischenfarbe. 1 ml 0,1 n Natronlauge entspricht 18,66 mg I. — *Arbeitsweise für II.* Man wägt 0,3 g der feingepulverten Substanz in einen bei 105° C zur Gewichtskonstanz getrockneten Glassintertiegel G 3, trocknet 4 Std lang bei 105° C und erhält aus der Gewichtsdifferenz den *Feuchtigkeitsgehalt* der Probe. Dann saugt man 3mal je 5 ml heißes absolutes Chloroform durch die Fritte und trocknet wieder 10—20 min lang bei 105° C. Der hiernach auftretende Gewichtsunterschied entspricht dem Gehalt des I an *Di- und Trimethylamin.* Sodann löst man den Inhalt des Glasfilters in 30—40 ml heißem Wasser, bringt die Lösung quantitativ in den Kolben eines für diese Bestimmung konstruierten Destillierapparates (Abb. 1), setzt 10 ml Benzaldehyd und 10 ml Alkohol zu und taucht den Kolben bei geöffnetem Trichterhahn in ein Wasserbad von 75° C. Nun saugt man einen mit verd. Salzsäure gewaschenen Luftstrom mit 20 l/Std Geschwindigkeit durch den Kolben und die mit 50 ml durch Bromphenolblau gefärbtes Wasser beschickte Vorlage. Dann gibt man durch den Trichter 50 ml Kaliumhydroxydlösung in den Kolben, schließt den Hahn des Einfülltrichters und setzt das Durchsaugen von Luft genau 1 Std lang fort, wobei man in die Vorlage aus der aufgesetzten Bürette immer soviel 1 n Salzsäure fließen läßt, daß deren Inhalt sauer reagiert. Man liest nach Beendigung der Destillation den Bürettenstand ab, gießt die Flüssigkeit aus der Vorlage in einen Farbvergleichszylinder, füllt auf 100 ml auf und setzt 2 ml Neßler-Reagens zu. Einen gleich großen zweiten Zylinder beschickt man mit Wasser und Neßler-Reagens und gibt soviel 0,01 n Ammoniumchloridlösung zu, bis in beiden Zylindern Farbgleichheit besteht. 1 ml 0,001 n Ammoniumchloridlösung entspricht 0,53 mg Ammoniumchlorid.

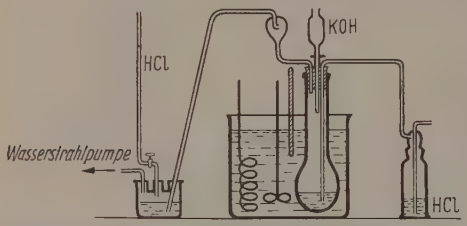

Abb. 1. Destillierapparat zur Abtrennung von Dimethylamin, Trimethylamin und Ammoniak von Monomethylamin nach Inczédy und Sztrókay

[1] Pharmazie **14**, 96—99 (1959). Techn. Univ. Budapest (Ungarn).

K. Söllner

Zur spektrophotometrischen Bestimmung von Methadon (Dolophin) in Arzneimitteln beschreibt M. J. Pro[1] 3 Verfahren. — 1. Tabletten mit 20—40 mg Methadonhydrochlorid werden in 10 ml Wasser aufgeschwemmt, über ein Anschwemmfilter filtriert und 3mal mit je 10 ml Wasser nachgewaschen. Nach Volumenauffüllung wird die Absorption gegen Wasser bei 292,5 nm gemessen. 2. Für die Absorptionsmessung im Infrarot bei 5,86 μ werden die Tabletten (30 mg Methadonhydrochlorid) mit 10 ml Wasser und 20 ml Chloroform 2 min ausgeschüttelt. Der Gehalt berechnet sich aus dem Vergleich mit einer Standardlösung. 3. Schließlich kann man bei größeren Mengen die Abdampfrückstände der Chloroformauszüge in 10 ml warmer 0,1 n Salzsäure lösen und mit Wasserdampf destillieren. Auch hierbei wird die Absorption bei 292, 5 nm ermittelt.

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **42**, 177—180 (1959). Alcohol Tobacco Tax Div. Lab., Washington, D.C. (USA).

B. Rossmann

Zur Bestimmung des Curcumins in Drogen benutzten K. H. Müller und H. Honerlagen[1] die Bildungsreaktion des Rubrocurcumins (Curcumin-Borsäure-Oxalsäure-1:1:1-Komplex), das photometrisch bei 540 mμ gemessen werden kann. — *Arbeitsweise.* 100 mg der fein gemahlenen Droge werden mit 60 ml Eisessig

in einem 100 ml-Meßkolben im Wasserbad 1 Std lang auf 90° C erwärmt. Dann gibt man 2 g Borsäure und 2 g Oxalsäure zu und erwärmt noch weitere 10 min. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird mit Eisessig zur Marke aufgefüllt und gemischt. 5 ml werden in einem 50 ml-Meßkolben mit Eisessig auf 50 ml aufgefüllt. Von dieser Lösung mißt man die Extinktion in 1 cm-Küvetten gegen Eisessig. Die Eichkurve wird mit reinem Curcumin aufgestellt, das in gleicher Weise behandelt wird. Der Curcumingehalt einer Droge ist dann in Prozenten gleich $E \cdot 10 \cdot 100/235$.— Andere Pflanzeninhaltsstoffe wie z. B. Polyoxyflavone geben ähnliche Reaktionen. Darum muß die Abwesenheit solcher Stoffe in essigsauren Extrakten zuvor papierchromatographisch ermittelt werden.

[1] Arzneimittel-Forsch. **9**, 134 (1959). Arzneimittelwerk A. Nattermann & Cie., Köln-Braunsfeld. B. Rossmann

Über die Bestimmung der Inhaltsstoffe von Rhabarber berichten R. Paris und H. Moyse[1] nach Besprechung der einschlägigen Literatur. Schließlich vergleichen die Verff. einige Methoden untereinander und benutzen dazu außer dem offizinellen chinesischen Rhabarber noch Züchtungen aus Holland und Frankreich. Es werden die Anthracenderivate vor und nach Hydrolyse und nach Hydrolyse mit Oxydation mittels Extraktionen mit Äther, Chloroform und Benzol gewonnen. Freie Anthracenderivate sind nur geringfügig vorhanden. Mit 5 n Schwefelsäure wird nach 2 Std die größte Ausbeute erzielt. Zur Abtrennung saurer Derivate ist reine Essigsäure oder verd. Salzsäure am geeignetsten. Mit 5%iger Natronlauge, die 2% Ammoniak enthält, erhält man einen rot gefärbten Extrakt, der 1,8-Dihydroxyanthrachinon enthält. Mit dieser Mischung ist auch die Oxydation auf dem Wasserbad in 4 min durchführbar. Die Unterschiede zwischen chinesischem Rhabarber und den angebauten Sorten in Holland und Frankreich sind nicht sehr groß.

[1] Ann. pharmac. franç. **16**, 561—574 (1958). B. Rossmann

Für die Bestimmung des Saponingehaltes von Roßkastanienextrakten und -präparaten nach der Aescinolmethode empfiehlt H. Römisch[1] ein gravimetrisches und ein titrimetrisches Verfahren. — *Gravimetrische Bestimmung.* Man dampft das Analysenmaterial auf dem Wasserbad zur Trockne ein und löst den Rückstand in soviel 90%igem Methanol, daß eine 3—5%ige Lösung entsteht. Hiervon alkalisiert man 20 ml mit 1 ml 10%iger methanolischer Kalilauge, dampft sie auf dem Wasserbad, bei starkem Stoßen unter einer IR-Lampe, bis nahezu zur Trockne ein und nimmt den noch etwas feuchten Rückstand in 20 ml Wasser unter 5 min langem Erwärmen auf 40° C auf. Die manchmal stark getrübte Lösung säuert man durch Zusatz von verd. Salzsäure auf p_H 2—3 an, hält sie, um die Fällung filtrierbar zu machen, weitere 5 min auf 40° C, saugt den amorphen Niederschlag über eine G4-Fritte ab und wäscht ihn 3—4 mal mit je 2,5 ml Wasser aus, bis das letzte Waschwasser kaum mehr Chlorreaktion zeigt. Nach kurzem Vortrocknen bei 40—50° C bringt man den Inhalt der Fritte bei 105—110° C zur Gewichtskonstanz und wägt. Das Gewicht, mit 1,14 multipliziert, ergibt den Saponingehalt der Analysenprobe als Aescin. — *Titrimetrische Bestimmung.* Man verfährt wie beschrieben, übergießt die gewaschene, feuchte Fällung von Aescinol in der Fritte mit 5 ml heißem 25—50%igem Isopropanol, saugt nach deren Inlösunggehen ab, wäscht die Fritte noch 2—3 mal mit je 5 ml heißem Isopropanol und verdünnt die vereinigten Lösungen je nach deren Farbe mit der gleichen oder doppelten Menge Wasser. Nach Zusatz von 2 Tr. Phenolphthaleinlösung als Indicator titriert man mit 0,1 n oder 0,02 n Natronlauge. 1 ml 0,1 n Natronlauge entspricht 0,1003 g Aescinol bzw. 0,1144 g Aescin.

[1] Pharmazie **13**, 707—711 (1958). VEB Arzneimittelwerk Dresden.
K. Söllner

Zur Bestimmung von Isoniazid setzen M. Mladenović, Z. Blagojević und D. Živanov[1] die Substanz mit Jodmethyl um, wobei eine quaternäre Jodammoniumverbindung entsteht. Diese ist ein gelbes, kristallines, wasserlösliches Produkt vom Schmelzpunkt von 227—228° C und erlaubt die Bestimmung von Isoniazid sowohl gravimetrisch als auch titrimetrisch. — *Arbeitsweise.* Man wägt etwa 100 mg Isoniazid in einem tarierten Erlenmeyer-Kolben, löst es in 3 ml Methylalkohol, fügt 2 ml Jodmethyl hinzu, setzt einen Rückflußkühler auf und erhitzt 30 min auf dem Wasserbad bei 55° C. Der Methylalkohol wird auf dem Wasserbad bei 55° C abdestilliert. Der Rückstand, eine gelbe, kristalline Masse, wird ausgewogen. Nach dieser gravimetrischen Bestimmung löst man den Rückstand in 10 ml Wasser, fügt 10 ml 0,1 n Silbernitratlösung hinzu und titriert den Überschuß von Silbernitrat mit 0,1 n Ammoniumthiocyanatlösung in Gegenwart von Eisenalaun. Die erhaltenen Resultate sind identisch mit den durch Gravimetrie erhaltenen, unter der Voraussetzung, daß 1 Mol Jodmethyl mit 1 Mol Isoniazid reagiert haben. — In gleicher Weise wird *Isoniazid in Tabletten und Ampullen*, die nur *Isoniazid* enthalten, bestimmt. Man behandelt die Tabletten mit 50 mg *Isoniazid* mit Methylalkohol, filtriert, fügt dem Filtrat 2 ml Jodmethyl zu und verfährt wie oben. Die Ampullen mit 200 mg Isoniazid in 10 ml Wasser werden zunächst auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft; der Rückstand wird wie das reine Isoniazid bestimmt. Die Genauigkeit beträgt etwa 2%.

[1] J. Pharmac. Belgique, N.S. **13**, 559—563 (1958). Johanna Sepp

Für die argentometrische Bestimmung von Theophyllinäthylendiamin (TÄD) neben anderen Arzneistoffen geben H. Beral, E. Demetrescu, V. Stoicescu und P. Grintescu[1] folgende *Arbeitsvorschriften. TÄD und Luminal.* Man schüttelt 0,3—0,4 g (genau gewogen) der Analysensubstanz mit 10—15 ml Wasser, fügt 5 ml 10%iges Ammoniak und 50 ml 0,1 n Silbernitratlösung zu, erwärmt den Ansatz 4—5 min lang, filtriert nach dem Erkalten und wäscht den Rückstand mit Wasser, bis in diesem keine Ag-Ionen mehr nachweisbar sind. Dann löst man den Rückstand in 5 ml verdünnter Salpetersäure und titriert, mit Eisen(III)-ammoniumsulfat als Indicator, mit 0,1 n Ammoniumrhodanidlösung. 1 ml Rhodanid = 0,01802 g Theophyllin. Das mit dem Waschwasser vereinigte Filtrat säuert man mit Salpetersäure an, schüttelt es 3mal mit je 5 ml Äther aus und bestimmt das Luminal nach bekannten Methoden in den Ätherauszügen. — *TÄD, Phenacetin und Luminal.* Man trennt das Phenacetin durch Schütteln der Analysensubstanz mit phenacetingesättigtem Wasser und Filtrieren durch einen 1 G4-Tiegel ab, wäscht es mit phenacetingesättigtem und anschließend mit dest. Wasser, trocknet und wägt. Das Filtrat mit den Waschwässern arbeitet man nach dem beschriebenen Verfahren auf. — *TÄD, Chininsulfat und Milchzucker.* 0,5—0,6 g der Mischung schüttelt man mit 10 -15 ml gesätt. Chininsulfatlösung bei nicht mehr als 15° C, filtriert durch einen 1 G4-Tiegel, wäscht 2—3mal mit gesätt. Chininsulfatwasser, dann 4—5mal mit Wasser von 15° C, trocknet und wägt den Rückstand oder titriert ihn mit 0,1 n Natronlauge gegen Bromkresolgrün. 1 ml 0,1 n Natronlauge = 0,03915 g Chininsulfatdihydrat. Filtrat und Waschwasser säuert man mit 5 bis 6 ml 10%iger Essigsäure an, versetzt mit 5 ml 5%iger Quecksilberacetatlösung und filtriert ab. Man wäscht den Rückstand mit je 5 ml Wasser bis zum Verschwinden der Hg-Ionen, löst ihn in 10%iger Salpetersäure und titriert mit Rhodanidlösung. 1 ml 0,1 n Rhodanidlösung = 0,01802 g Theophyllin. — *TÄD und Papaverinhydrochlorid.* 0,4—0,5 g der Mischung löst man in 10—15 ml essigsäurehaltigem Wasser, gibt 10 ml 10%ige Ammoniaklösung und 50 ml Silbernitratlösung zu, erwärmt 5 min lang auf 50° C, filtriert und verfährt mit dem Rückstand

wie beschrieben. Filtrat und Waschwasser säuert man mit 10%iger Salpetersäure an, erhitzt zum Sieden, filtriert das ausgefallene AgCl ab und bestimmt den Silbernitratüberschuß durch Titration mit Rhodanid. 1 ml 0,1 n Silbernitratlösung = 0,03758 g Papaverinhydrochlorid. Für die gleichzeitige Anwesenheit von Luminal werden weitere Vorschriften angegeben.

[1] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **98**, 49—56 (1959). Inst. Arzneimittelforsch. Arzneimittelprüf., Bukarest (Rumänien). K. Söllner

Über das papierchromatographische (p-chr) Verhalten der Hydrochloride von Tetracain (I) und Phenylephrin (II) und deren densitometrische Bestimmung berichtet H. Schriftman[1]. — *Arbeitsweise.* Man entwickelt absteigend auf Whatman Nr. 1-Papier mit der oberen Phase des Systems n-Butanol-Essigsäure-Wasser (5:1:3), wobei man Mengen von 5—25 μg der Substanzen einsetzt. I hat den R_f-Wert 0,83 und wird durch Besprühen des getrockneten P-chr mit modifiziertem *Dragendorff-Reagens* (siehe unten) sichtbar gemacht, wobei es als roter Flecken auf leicht orange gefärbtem Grunde erscheint. Die Lokalisierung von II führt man mit *Diazo-Reagens* (siehe unten) aus, indem man nach dem Besprühen des P-chr mit Diazo-Reagens eine Nachbehandlung mit 5%iger wäßriger Kaliumcarbonatlösung vornimmt. II erscheint bei R_f 0,63 mit intensiv gelber Farbe. Durch Ausmessen der Flecken mit einem Photovolt-Densitometer Modell 525 läßt sich die Bestimmung von I und II quantitativ gestalten. Sie ergibt gegenüber der spektrophotometrischen und colorimetrischen Messung gute Übereinstimmung (Tabellen und Diagramm im Original). Bei der p-chr Entwicklung von II läßt sich häufig feststellen, daß 3—4 Zersetzungsprodukte auftreten, die die R_f-Werte 0,58; 0,37 und 0,26 besitzen. — *Dragendorff-Reagens.* Lösung 1. Man löst 0,85 g Wismutsubnitrat in einer Mischung von 40 ml Wasser und 10 ml Eisessig. Lösung 2. Man löst 8 g Kaliumjodid in 20 ml Wasser. Unmittelbar vor dem Besprühen mischt man je 5 ml der Lösungen 1 und 2 mit 20 ml Eisessig und 100 ml Wasser. — *Diazo-Reagens.* Man mischt 20 ml einer 5%igen Lösung von Natriumnitrit mit 20 ml einer Lösung, die 1 g p-Sulfanilsäure und 15 ml konz. Salzsäure in 1 l enthält.

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **48**, 111—113 (1959). Wyeth Labs., Radnov, Pa. (USA). K. Söllner

Alkaloide. *Eine Übersicht über die polarographische Bestimmung polarographisch reduzierbarer Alkaloide in Britton-Robinson-Puffer* gibt F. Šantavý[1]. Mit diesem Verfahren lassen sich die folgenden Alkaloidgruppen analytisch erfassen: Alkaloide mit einer einer Doppelbindung konjugierten Ketogruppe, wie *Colchicin* und seine Nebenbasen, *Lobelin*, *Sinomenin*, einige *China-Alkaloide*, *Narcein*, die *Codeinone* und Derivate des *Dihydromorphinons* sowie Oxo-dihydromorphin-Verbindungen. Alkaloide, deren Carboxylgruppe mit einer Doppelbindung konjugiert ist, wie *Piperin*, *Erythrophlein* und dessen Säure, weiterhin Alkaloide ohne Pyrrol- und Pyridinkern mit einer Stickstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung. Hierzu gehören verschiedene China-Alkaloide und *Hydrastinin*, *Cotarnin*, *Berberin*, *Sanguinarin* und *Chelerythrin* in ihrer Ammoniumform. Bei vielen Pflanzenbasen lassen sich auf Grund ihrer p_H-abhängigen charakteristischen polarographischen Stufen Schlüsse auf deren Konstitutionsänderungen in verschiedenen Medien ziehen. Liegen gut entwickelte Kurven mit hinreichend positivem Halbstufenpotential vor, so kann das betreffende Alkaloid in der Droge oder in deren pharmazeutischen Zubereitungen quantitativ bestimmt werden. Bei Anwesenheit strukturanaloger

Nebenalkaloide werden diese allerdings mit erfaßt. Das Original enthält zahlreiche Diagramme von Polarisationskurven.

[1] Chem. analit. (Warszawa) **3**, 357–368 (1958). Palacky Univ. Olomouc (ČSR).
K. Söllner

Eine spektrophotometrische und titrimetrische Methode zur Bestimmung der gesamten Trimethoxybenzoesäure(TMB)ester in einem Gemisch der Rauwolfia-Alkaloide führt J. Poisson[1] nach folgender *Arbeitsweise* durch: Man wägt eine etwa 5 mg TMB entsprechende Menge (p) des Analysenmaterials in einen Kolben, gibt 10 ml 0,1 n methanolische Kalilauge zu und erhitzt 2 Std lang unter Rückfluß zum Sieden. Nach dem Erkalten spült man den Kühler mit 2 mal 3 ml Methanol, verdampft diesen rasch, nimmt den Rückstand in 10 ml dest. Wasser auf und überführt die Lösung quantitativ in ein Absitzkölbchen von 20 ml Inhalt, erforderlichenfalls unter Zusatz einiger Tropfen Salzsäure. Nach weiterem Zusatz von 0,5 ml reiner Salzsäure schüttelt man die wäßrige Flüssigkeit 3 mal mit je 5 ml Äther aus. Die vereinigten Ätherauszüge wäscht man 3 mal mit je 2 ml Wasser und versetzt sie dann mit etwa 0,5 g wasserfreiem Natriumsulfat. Nach 30 min langem Trocknen gießt man die Ätherlösung durch einen Wattebausch in einen 100 ml-Meßkolben (I), spült Trockenmittel und Kolben mit Äther nach und füllt mit diesem bis zur Marke auf. Nun pipettiert man aus dem Kolben 5 ml der Ätherlösung in einen 50 ml-Meßkolben, verdampft den Äther, nimmt den Rückstand in einem gemessenen Volumen (V) Äthanol auf und ermittelt die optische Dichte dieser Lösung (d) bei 261 nm. Durch Vergleich mit der Extinktion von TMB-Standardlösungen erhält man deren Konzentration (a). Die in der Analysensubstanz erhaltene Menge Reserpin in Prozent (P) erhält man aus der Gleichung $P = a \cdot V \cdot 57{,}4/p$. — Zur Durchführung der Titration überführt man die in I verbliebenen 95 ml TMB-Ätherlösung in einen 200 ml-Kolben, verdampft den Äther und trocknet zuletzt im Vakuum, um alle Salzsäure zu entfernen. Dann übergießt man den Rückstand mit 20 ml Wasser, erhitzt 3 min lang zum Sieden, gibt 4 Tr. Phenolphthaleinlösung als Indicator zu und titriert heiß mit 0,01 n Natronlauge (Verbrauch n) gegen einen Leeransatz mit 20 ml Wasser (Verbrauch n'). Ebenso titriert man 20 ml einer Lösung von 25 mg TMB in 100 ml Wasser (entsprechend $t\,g$), wobei N ml 0,01 n Natronlauge verbraucht werden. Dann ist der Prozentsatz Reserpin im Analysenmaterial $P = (n-n') \cdot t \cdot 300/(N-n') \cdot p$.

[1] Ann. pharmac. franç. **16**, 611–615 (1958). Fac. Pharmac., Paris (Frankreich).
K. Söllner

Die Alkaloide verschiedener Lobelia-Arten untersuchten E. Steinegger und F. Kaczmarek[1] durch papierchromatographische Analyse. — *Arbeitsweise.* Das Pflanzenmaterial wurde nach der Ernte bei 25–30° C und zum Schluß bei 40° C getrocknet. 2 g pulverisierte Droge durchfeuchtete man sorgfältig mit 1 ml 5%igem Ammoniak, verrieb mit Sand und brachte in ein kleines Perkolationsrohr. Man extrahierte mit peroxydfreiem Äther bis zum Verschwinden der Reaktion mit Mayer-Reagens. Die ätherische Lösung schüttelte man mit 8 ml, dann 3 mal mit je 4 ml 2%iger Schwefelsäure aus. Die vereinigten sauren Ausschüttelungen wurden unter vermindertem Druck von Ätherresten befreit, filtriert, in Eis auf etwa 5° C abgekühlt und mit gekühltem 5%igem Ammoniak bis p_H 8 versetzt. Dann schüttelte man sofort mit 10, 8, 6 und 4 ml Äther aus. Die Ätherauszüge wurden 3 mal mit je 0,5 ml Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum zur Trockne gebracht. Die dabei erhaltenen Totalalkaloide löste man in 0,5 ml Methanol. Zu 0,09 ml dieser Lösung wurden 0,01 ml Formamid gegeben, etwa 0,005–0,01 ml dieser Mischung auf mit Formamid/Ammoniumformiat/Ameisensäure imprägniertes Papier (Schl. & Sch. 2045 bm)

aufgetragen und nach absteigender Methode mit Chloroform/Äther (9:1), mit Formamid gesättigt, chromatographiert. So gelingt durch die Identifizierung einzelner Alkaloide die Unterscheidung von verschiedenen Arten der Gattung Lobelia, sowie die Feststellung von Kreuzungen zwischen diesen.

[1] J. Pharmac. Belgique, N.S. **13**, 534—539 (1958). Univ. Bern (Schweiz).
JOHANNA SEPP

Über die elektrometrische Papierchromatographie der Hyoscyamus.-Alkaloide berichten B. KAMIEŃSKI und B. WALIGÓRA[1]. Verff. hatten früher[2] eine Methode ausgearbeitet, bei der die Messung der elektrischen Potentiale der einzelnen Tropfen von Eluaten aus Absorptionskolonnen mittels Mikro-Elektroden ausgeführt werden konnte. Diese Elektroden können auch zur Messung von Spannungsunterschieden auf feuchten Papierchromatogrammen benutzt werden. — *Arbeitsweise.* Man stellt nach dem Verfahren der polnischen Pharmakopöe III aus 1 kg trockenen, gepulverten Bilsenkrautblättern 8 kg Extrakt her, engt diesen im Vakuum ein, bis eine Alkaloidkonzentration von 0,029% (entsprechend etwa 0,001 m) erreicht ist und verdünnt 10 ml dieses Konzentrates mit 50 ml einer Mischung von Butanol—Äthanol (100:2), trennt die entstandene Fällung ab und bringt das blanke Filtrat auf eine Säule aus Whatman-Cellulose-Pulver von 7 mm ⌀ und 80 mm Länge. Man befestigt eine Antimon-Mikroelektrode an dem Auslauf der Säule, so daß sie von jedem Tropfen berührt wird und mißt die hierbei auftretenden elektrischen Potentiale mit einem Quadrant-Mikroelektrometer der Cambridge Instrument Co. Trägt man die gefunden Werte in einem Koordinatensystem auf die Ordinate ein, während die Abszisse das Volumen des abgelaufenen Eluates anzeigt, so erhält man eine charakteristische Kurve, die nach Ablauf von 5 ml Eluat einen scharfen Knick aufweist. Die Eluierung dauert 240 min. Für die papierchromatographische Entwicklung reinigt man den Extrakt auf folgende Weise: Man füllt eine Röhre von 10 mm ⌀ und 200 mm Höhe mit wasserfreiem Aluminiumoxyd „Merck", gibt 10 ml des Rohextraktes auf die Spitze der Säule und eluiert mit 80%igem Äthanol nach dem beschriebenen Verfahren. Jede Fraktion, bei der ein deutlicher Knick in der Potentialkurve erscheint, wird für sich gesammelt. Insgesamt sind bei einer Eluatmenge von 48 ml alle Alkaloide ausgewaschen. Die Einzelfraktionen konzentriert man im Vakuum auf 1 ml und verdünnt sie wieder mit 94%igem Äthanol auf 2 ml. 0,08 ml jeder dieser Lösungen bringt man auf einen $1{,}5 \times 35$ cm großen Streifen Whatman-Papier Nr. 1 und entwickelt aufsteigend während 32 Std mit dem mit Wasser gesätt. System n-Butanol/Äthanol/Ammoniak (100:3:10). Nach dem Trocknen der Chromatogramme besprüht man sie mit Wasser und tastet sie mit einer Mikro-Elektrode ab. Die Potentiale trägt man auf der Ordinate, die Entfernungen vom Startpunkt auf der Abszisse eines Koordinatensystems ein. So lassen sich die einzelnen Alkaloide durch deutlich sichtbare Potentialsprünge lokalisieren. Das Original enthält 5 Diagramme mit Potentialkurven und Angaben über die Durchführung einer elektrophoretischen Trennung der Alkaloide.

[1] Bull. Acad. pol. Sci. chim., geol., geogr. **6**, 771—775 (1958). Inst. Physik. Chem. Oberflächenforsch., poln. Akad. Wiss. (Polen). — [2] KAMIEŃSKI, B.: Bull. Acad. Polon. Sci et Lettres, Serie A 1948—1953. K. SÖLLNER

Über die nichtwäßrige Titration der Opiumalkaloide Morphin, Codein und Thebain berichten H. SAKURAI, Y. YONEDA und T. NOMURA[1]. — *Arbeitsweise.* Man löst je etwa 10 mg der Alkaloide in einer Mischung von je 20 ml Chloroform und 2 ml Isopropanol, wobei man für die Bestimmung von Morphin noch 2 g Phenol zusetzt, und titriert mit 0,002 n Lösungen von Perchlorsäure oder p-Toluolsulfonsäure in Äthylenglykol/Isopropanol (1:1) oder in Äthylenglykol/Dioxan (1:1), beide v/v

Die genannten Alkaloide ergeben genaue Titrationswerte, während schwache Basen, wie Narkotin und Papaverin weniger exakte Werte liefern (Titrationskurven im Original).

[1] J. pharmac. Soc. Japan **78**, 1435—1437 (1958) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Shinagawa Plant, Sankyo Co., Ltd. (Japan). K. Söllner

Ein Verfahren für die gleichzeitige infrarotspektroskopische Bestimmung von Narcotin (I), Thebain (II) und Papaverin (III) in Opium beschreiben V. J. Bakre, Z. Karaata, J. C. Bartlet und C. G. Farmilo[1]. — *Arbeitsweise.* Man verreibt 4,5 g gepulvertes und gesiebtes (20:40 mesh) Opium 20 min lang mit 20 ml Eisessig, gibt dann langsam aus einer Bürette unter ständigem Rühren 25 ml Wasser zu und filtriert durch ein Whatman-Filter 42 H. Dann beschickt man 5 Schütteltrichter von je 125 ml Inhalt mit folgenden Lösungen: Nr. 1 mit 10 ml des essigsauren Opiumauszuges, Nr. 2, 4 u. 5 mit je 10 ml Wasser, Nr. 3 mit 15 ml mit Wasser verdünnter Natronlauge (1:1), 10 ml Wasser und 50 mg Natriumhydrogensulfit. Nun gibt man in Nr. 1 10 ml Chloroform (Chlf), schüttelt aus, bringt das Chlf in Nr. 2, schüttelt wieder durch, überführt das Chlf in Nr. 3 und verfährt analog weiter bis zu Nr. 5. Inzwischen wurde der Opiumextrakt in Nr. 1 mit weiteren 10 ml Chlf ausgeschüttelt und dieser Chlf-Auszug wieder über die Trichter Nr. 2—5 gereinigt. Man wiederholt die Chlf-Ausschüttelungen von Nr. 1 sinngemäß so lange, bis sich in diesen keines der 3 Alkaloide mehr nachweisen läßt. Hierzu versetzt man 2 Tr. des zu prüfenden Chlf-Auszuges mit etwas 85%iger Phosphorsäure. II ergibt eine goldgelbe Färbung. I reagiert mit einer Lösung von 0,1—0,12 g Kaliumpersulfat p. a. in 5 ml konz. Schwefelsäure unter Rotorangefärbung, III färbt sich bei Zusatz einer Lösung von 0,5 g Natriummolybdat in 5 ml konz. Schwefelsäure (95,5%ig), die im Verhältnis 1:15 mit rauchender Schwefelsäure gemischt wurde, intensiv violett. Alle durch Nr. 5 passierten Chlf-Extrakte läßt man durch ein Wattefilter laufen, dampft sie im Vakuum ab und verreibt den Rückstand mit wasserfreiem Tetrachlorkohlenstoff. Man filtriert und wäscht mit CCl_4 bis zu einem Endvolumen von 25 ml nach. Von dieser Lösung bestimmt man in einer 1 mm-Natriumchloridküvette das IR-Absorptionsspektrum mit einem Perkin-Elmer-Spektrophotometer Modell 2 und vergleicht mit den Spektren von Testlösungen der Alkaloide. Die IR-Absorptionsmaxima liegen für I bei 1767, für II bei 1602 und für III bei 1160 cm^{-1}. (IR-Absorptionsspektren und Berechnung der Befunde vgl. Original.)

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **11**, 234—243 (1959). Food a. Drug Directorate, Tunney's Pasture, Ottawa (Canada). K. Söllner

Für die colorimetrische Bestimmung von Colchicin (C) in wäßriger Lösung gibt E. M. Pearce[1] folgendes Verfahren an: Man löst in 15×150 mm großen Reagensgläsern Mengen von 100—1000 μg C in 1 ml n Salzsäure in 50%igem Äthanol, verschließt die Gläser lose und erwärmt deren Inhalt 30 min lang im siedenden Wasserbad. Dann gibt man in jedes Glas 2 ml wäßrige 0,1 n Salzsäure und 0,01 ml 10 m(?) Eisen(III)-chloridlösung. Die Extinktion der hierbei auftretenden Olivgrünfärbung mißt man bei 630 mμ in einem Coleman-Spektrophotometer Modell 6 B. Innerhalb der angegebenen Konzentrationen entsprechen die Werte dem Beer-Lambertschen Gesetz. Es wurden 98,6% der Theorie erfaßt. — *Zur Isolierung von C* aus wäßrigen Lösungen neutralisiert man 40 ml einer 1 mg C enthaltenden Lösung genau auf p_H 7, schüttelt 3mal mit je 30 ml Äthylendichlorid aus, wäscht die vereinigten Extrakte 2mal mit 10 ml n Natronlauge, diese wieder mit 10 ml Äthylendichlorid, dampft die vereinigten organischen Phasen ein und verfährt mit dem Rückstand wie beschrieben. Es tritt ein Verlust von 4% C auf. Bei der Aufarbeitung

von C enthaltendem Urin nach der gleichen Methode lassen sich nur 50—70% des vorhandenen Alkaloides erfassen. Die papierchromatographische Entwicklung von C enthaltendem Urin läßt sich auf Whatman-Papier Nr. 1 oder 4 mit dem System Benzol/Formamid durchführen, wobei C in 1 Std etwa um 4 cm wandert. Sein Nachweis geschieht durch Behandeln mit konz. Salzsäure, wobei sich C gelbgrün färbt. Jedoch gelingt es nicht, das Alkaloid quantitativ aus dem Papier zu eluieren.

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **2**, 108—113 (1959). Lillia Babitt Hyde Found., New York, N. Y. (USA). K. Söllner

Antibiotica. *Zur colorimetrischen Bestimmung von Biomycin (Chlortetracyclin, Aureomycin)* empfehlen L. B. Senjavina und B. P. Bruns[1] das Verfahren von J. Levine, E. Garlock und H. Fischbach[2], das sich als sehr spezifisch erwiesen hat und die Bestimmung von Chlortetracyclin in fertigen Industrieprodukten, aber auch in Kulturlösungen und Zwischenprodukten der Isolierung durchzuführen gestattet, wenn der Gehalt nicht kleiner ist als 50 μg/ml. Das Chlortetracyclin wird in Anhydrochlortetracyclin übergeführt, welches gelb-orange gefärbt ist und photometrisch bei 430 mμ bestimmt wird. Zur Durchführung gibt man in zwei 50 ml-Meßkolben je 1 ml der zu untersuchenden Lösung und in den 1. Kolben 5 ml 2 n Salzsäure, in den 2. Kolben 5 ml Wasser, stellt beide Kolben für 5 min in kochendes Wasser, kühlt in kaltem Wasser, gibt in den 2. Kolben 5 ml 2 n Salzsäure und füllt beide mit Wasser zur Marke auf. Die Verff. stellen fest, daß das Maximum der Extinktion nach 3,5 min Erhitzen der Lösung im siedenden Wasserbad erreicht wird. Die Farbe der abgekühlten Lösung verändert sich innerhalb von 5 Std nicht. Zur schnellen und halbquantitativen Bestimmung kann man visuell gegen eine Reihe von Kaliumdichromatstandardlösungen colorimetrieren. Einer angegebenen Tabelle kann man dann direkt den Gehalt an Chlortetracyclin entnehmen.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 613—616 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Allunions-Wiss.-Forsch.-Inst. f. Antibiotika, Moskau. — [2] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **38**, 473 (1949). H. Nieswand

Eine Methode zur Bestimmung von Novobiocin teilen F. A. Bacher, G. V. Downing jr. und J. S. Wood jr.[1] mit. Die Methode beruht auf der hydrolytischen Abspaltung von Ammoniak aus der Carbaminylgruppe. Ammoniak wird nach Dampfdestillation titriert. Novobiocin kann so von Descarbaminylnovobiocin unterschieden werden, nicht aber von Isonovobiocin, das ebenfalls eine Carbaminylgruppe aufweist. — *Ausführung.* In den 60 ml fassenden Kolben eines auf etwa das doppelte vergrößerten Dampfdestillationsapparates nach D. J. Jenden und D. B. Taylor[2] wiegt man eine etwa 0,09 mMol Novobiocin entsprechende Menge ein, fügt 7—8 Tr. eines Antischaummittels zu und dichtet die beiden Glasschliffe mit 10 n Natronlauge. Die Vorlage füllt man mit etwa 20 ml 2%iger Borsäurelösung und läßt das Rohr eintauchen. Durch den Hahntrichter läßt man 5 ml 2 n Natronlauge zufließen, erhitzt 10 min beim Kochpunkt ohne nennenswerte Destillation, setzt 2 ml 6 n Schwefelsäure zu, erwärmt bis die Suspension gut gemischt ist, gibt nochmals 5 ml 2 n Natronlauge zu und entfernt die Vorlage, sobald ihr Inhalt im Rohr zu steigen beginnt. Nachdem man die Vorlage wieder angebracht hat, leitet man sofort einen Dampfstrom durch das System und entfernt die Heizquelle unter dem Kolben. Innerhalb von 5—10 min sammelt man etwa 30 ml Destillat und titriert mit 0,01 n Salzsäure entweder potentiometrisch oder mit Mischindicator (siehe unten) von Blaugrün zu Orangerot. Ein Blindansatz soll immer

mitlaufen. 1 Mol Novobiocin (Mol-Gew. 612) liefert 1 Mol Ammoniak. — *Korrektur für Ammoniak und nicht extrahierbare Amide und Amine.* 0,5 mMol Novobiocin wiegt man in ein 15 ml-Stopfenzentrifugenglas, fügt 5 ml 0,2 n Salzsäure sowie 5 ml Äthylacetat hinzu und schüttelt 1–2 min. Nach Trennung der Schichten (zentrifugieren) zieht man die untere Wasserphase in den Kolben des Destillierapparates. Man extrahiert die organische Phase ein zweites Mal mit 5 ml 0,2 n Salzsäure und gibt diese wäßrige Phase auch in den Kolben. Nach Zusammensetzen des Apparates pipettiert man 5 ml 2 n Natronlauge ein, bringt die Dampfdestillation in Gang und titriert wie oben. — *Mischindicator.* 2 Teile 0,1%ige äthanolische Methylrotlösung + 10 Teile 0,1%ige äthanolische Bromkresolgrünlösung.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1993—1995 (1958). Merck Sharp & Dohme Res. Lab., Rahway, N.J. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **25**, 685 (1953).

E. Müller, Würzburg

Ein maßanalytisches Verfahren zur Bestimmung von Novobiocin in Gegenwart von Isonovobiocin haben A. A. Forist, S. Theal und W. A. Struck[1] ausgearbeitet. — *Arbeitsweise.* Man wägt 40—50 mg des Analysenmaterials genau in ein mit Schliffstopfen versehenes Zentrifugenglas von 50 ml Inhalt, gibt 5 ml wasserfreie Trifluoressigsäure zu, verschließt und läßt den Ansatz 2 Std lang im Dunkeln bei Raumtemperatur stehen. Dann fügt man unter ständigem Umschwenken 20,00 ml Wasser zu und trennt das hierbei ausfallende Präcipitat durch Zentrifugieren und anschließendes Filtrieren durch eine Glasfritte ab. Auf analoge Weise verarbeitet man Proben von 20, 40 und 60 mg eines Standard-Novobiocin-Präparates. Nun entnimmt man jedem der Filtrate je 20 ml, bringt diese in je einen 125 ml-Erlenmeyer-Kolben, setzt 5,00 ml 0,2 n Perjodsäurelösung zu und läßt zur Oxydation 1 Std lang im Dunkeln stehen. Ebenso bereitet man einen Blindansatz aus den Reagentien. Man versetzt dann jeden der Ansätze mit 2,5 ml 10 n Natronlauge und löst in ihnen Natriumbicarbonat bis zur Sättigung. Nun gibt man zu jedem Ansatz 10,00 ml 0,1 n Natriumarsenitlösung und 2 ml 5%ige Kaliumjodidlösung, läßt 15 min lang stehen und titriert mit Stärkelösung als Indicator den Überschuß des Arsenites mit 0,01 n Jodlösung zurück. Mit diesem Verfahren werden 85% des theoretischen Perjodatverbrauches von 2 Äquivalenten für 1 Mol Novobiocin erfaßt.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 100—102 (1959). The Upjohn Co., Kalamazoo, Mich. USA).

K. Söllner

Für die colorimetrische Bestimmung des Antibioticums Oleandomycin (OM) empfiehlt T. Miyake[1] folgendes *Verfahren.* Man diazotiert 0,5 ml einer 1%igen Lösung von Sulfanilsäure in Salzsäure mit 1 ml 1%iger wäßriger Natriumnitritlösung während 2 min in Eiswasser und fügt unter ständigem Umschütteln 1 ml 0,4 n Natronlauge und 0,5 ml Pyridin zu. Dann versetzt man das Gemisch mit 2 ml wäßriger Lösung, die in 1 ml 25—300 μg OM-phosphat enthält, erwärmt 30 min lang auf 30° C und fügt dann unter Umschütteln 3 ml Äthanol und 1 ml 0,5%iger wäßriger Ascorbinsäurelösung zu. Die hierbei entstandene Rotfärbung zeigt ein Absorptionsmaximum bei 532 mμ (Absorptionskurve im Original). Innerhalb der angegebenen Konzentrationen ist die bei dieser Wellenlänge gemessene Extinktion der Ansätze proportional der Konzentration an OM. Die unter Anwendung dieses Verfahrens gefundenen Analysenwerte zeigen gute Übereinstimmung mit den mikrobiologisch ermittelten Befunden.

[1] J. pharmac. Soc. Japan **79**, 29—32 (1959) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Kyoto (Japan).

K. Söllner

4. Analyse von biologischem Material

Über die Isolierung und Bestimmung von radioaktiven Caesium-137 in biologischem Material berichten N. Yamagata und T. Yamagata[1]. Caesium-137 wird nach Zusatz von Trägersubstanz als Phosphomolybdat gefällt und zur Isolierung in das Chloroplatinat übergeführt. — *A. Ausführung. Aufbereitung der Proben. Urin.* 500 ml Urin werden mit 50 ml Salpetersäure und 2 ml Caesiumchloridträgerlösung (10 mg/ml) versetzt und auf etwa 50 ml eingeengt. Die Lösung wird in eine Porzellanschale überführt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit Salzsäure/Salpetersäure (1 + 1) angefeuchtet und erhitzt. Diese Behandlung wird bis zur völligen Zersetzung der organischen Materie wiederholt. Der Rückstand wird mit 5 mal 50 ml heißem Wasser ausgezogen. Die Filtrate werden vereinigt und auf etwa 300 ml ergänzt. Zur Untersuchung von *Pflanzen* werden 100—200 g getrockneter Produkte verwandt, während bei der Untersuchung von *Trockenmilch* 50 g eingewogen werden. Die Substanzen werden bei 400—450° C verascht. Der Rückstand wird mit 2 ml Cs-Trägerlösung zersetzt und 5 mal mit je 50 ml heißer Salzsäure (1 + 9) ausgezogen. Die vereinigten Filtrate werden nach dem Zusatz von 50 ml Salpetersäure zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit 5 mal 50 ml heißem Wasser extrahiert, die Lösungen werden vereinigt und auf etwa 300 ml ergänzt. Zur Extraktion von *Boden* behandelt man 300 g Probe mit 3 l 1 n Ammoniumacetatlösung 4—5 Tage lang, filtriert, verdampft, gibt 2 ml Cs-Trägerlösung zu und behandelt weiter wie oben angegeben. — *B. Abtrennung des Caesiums.* Zu den 300 ml Lösung wird tropfenweise Ammoniak zugesetzt, bis ein dichter Phosphatniederschlag ausfällt. Es wird ein Überschuß von 2 ml Ammoniak zugesetzt und nach einiger Zeit der Niederschlag abfiltriert. Der Niederschlag wird mit Ammoniak (1 + 99) gewaschen und das Waschwasser mit dem Filtrat vereinigt. Nach dem Zusatz von 20 ml Salpetersäure, werden 5 mg Phosphor, in Form von Phosphorsäure, zugesetzt, und die Lösung wird auf 50—60° C erwärmt. Es werden 20 ml 10%ige Ammoniummolybdatlösung zugegeben. Nach dem Abkühlen wird der Niederschlag abfiltriert, 5 mal mit Salpetersäure (2:100) gewaschen und dann in Ammoniak (1 + 1) unter Nachwaschen aufgelöst. Die Lösung und das Waschwasser werden vereinigt und zur Entfernung von Ammoniak aufgekocht. Die Lösung wird auf 100 ml verdünnt und abgekühlt. Es wird 1 ml 10%ige Hexachloroplatinsäure zugesetzt und nach einigen Stunden der Niederschlag abfiltriert. Dieser wird mit 10 ml kaltem Wasser und 3 Portionen Äthanol gewaschen. Nach dem Trocknen bei 110° C wird der Niederschlag gewogen. Zur ^{137}Cs-Bestimmung wird der Niederschlag im Zählrohr auf β-Zerfall geprüft. Das Zählrohr wird mit einem Standard aus ^{137}Cs und 20 mg Caesium nach Fällung als Chloroplatinat geeicht. Das Verfahren liefert brauchbare Werte.

[1] Bull. chem. Soc. Japan **31**, 1063—1068 (1958). Gunma Univ., Kiriu (Japan).
H. Zimmer

Über die Mikrobestimmung von Calcium in Serum mit ÄDTA und photometrischer Endpunktserkennung berichten O. P. Foss und B. Andersen[1]. Der Äquivalenzpunkt kann durch den Stillstand des Galvanometerlichtfleckes erkannt werden. — *Ausführung.* 1,3 ml 0,3 n Natronlauge, 0,1 ml Serum und 0,02 ml 0,1%iger wäßriger Murexidlösung werden in der Küvette des Photometers gemischt. Durch einen variierbaren 200 Ω-Widerstand wird der Lichtfleck des Spiegelgalvanometers auf die linke Seite der Skala gebracht. Die ÄDTA-Zugabe erfolgt unter gleichzeitigem magnetischen Rühren. Mit der Änderung der Absorption wandert der Lichtfleck auf der Skala. Am Umschlagspunkt ist ein deutlicher Stillstand zu erkennen und die ÄDTA-Zugabe wird abgebrochen. Als Filter wird das Ilford-Spektralfilter Nr. 607 verwandt. — Vergleiche mit der Methode von

E. P. Clark und J. P. Collip[2] zeigen, daß das vorgeschlagene Verfahren bei Calciumgehalten von 5—13 mg/100 ml um 5% zu niedrige Ergebnisse liefert. Technische Einzelheiten mögen dem Original entnommen werden.

[1] Scand. J. clin. Lab. Invest. **10**, 437—438 (1958). Ullevål Hospital, Oslo (Norwegen). — [2] Scand. J. clin. Lab. Invest. **63**, 461 (1925). H. Zimmer

Ein Verfahren zur komplexometrischen Bestimmung von Calcium im Urin beschreiben E. Knappe und V. Böckel[1]. Calcium wird vom störenden Sulfat sowie Phosphat durch Ionenaustausch abgetrennt und anschließend mit ÄDTA gegen Murexid titriert. Der Endpunkt wird photometrisch festgestellt. — *Ausführung.* Der zu prüfende Harn wird mit 25%iger Salzsäure auf einen p_H-Wert 2,5—3 eingestellt und filtriert. 1,00 ml des Filtrates wird auf eine mit Wofatit P (H^+-Form) beschickte Kationenaustauschersäule gegeben. Die Säule wird mit bidest. Wasser gewaschen, und anschließend wird mit 10 ml 7%iger Salzsäure, die auf 50—60° C erwärmt wurde, eluiert. Mit Wasser wird nachgewaschen, bis die gesamte Eluatmenge ein Volumen von 100 ml erreicht hat. Ein aliquoter Teil wird in der Photometerküvette mit 1—2 ml 5 n Natronlauge sowie mit 1—2 ml 0,01%iger Murexidlösung versetzt. Portionsweise wird 0,001 m Na-ÄDTA-Lösung zugesetzt und die Extinktion bei 600 mμ gemessen. Am Umschlagspunkt ist ein deutlicher Knick in der Extinktionskurve festzustellen. Versuche an nativen und synthetischen Harnen zeigen die Brauchbarkeit des vorgeschlagenen Verfahrens.

[1] Pharmazie **13**, 610—612 (1958). Inst. Mikrobiol. exp. Therapie, Jena, Dtsch. Akad. Wiss. H. Zimmer

Eine Methode zur Bestimmung von Zink im Harn mit Diphenylthiocarbazon nach direkter Extraktion geben J. H. R. Kägi und B. L. Vallee[1] an. Nach eingehenden Untersuchungen werden die Bedingungen ermittelt, unter denen sich Zink aus dem unvorbehandelten Harn ohne Emulsionsbildung quantitativ extrahieren läßt. Die Ergebnisse stimmen mit denen nach Veraschung überein. — *Ausführung.* In einen 125 ml-Scheidetrichter mit Teflonausfluß gibt man 5 ml Harn, 2 ml Tartratlösung (100 g Natriumkaliumtartrat löst man in Wasser zu 500 ml und reinigt durch Extraktion mit 0,01%iger Dithizonlösung), 2 ml 6 n Salzsäure und 1 Tr. 0,1%ige wäßrige Chlorphenolrotlösung. Man versetzt mit Ammoniak (ein gesätt. Destillat wird mit Wasser 1:1 verdünnt und in einer Polyäthylenflasche aufbewahrt) bis zur beginnenden Rotfärbung, dann mit 40 ml Pufferlösung (siehe unten) und schüttelt 1 min mit 15 ml Tetrachlorkohlenstoff zur Beseitigung emulsionsbildender Substanzen. Nach 5 min verwirft man die sorgfältig abgetrennte, trübe organische Phase. Das wiederholt man mit 10 ml und 2mal mit je 5 ml Tetrachlorkohlenstoff. Wenn der letzte Extrakt noch trübe ist, muß man weiter bis zur Klärung der organischen Phase extrahieren. Man versetzt mit 7 ml 0,003%iger Dithizonlösung, die man aus der Stammlösung (siehe unten) durch Verdünnen herstellt und schüttelt 2 min. Die organische Phase gibt man in ein 25 ml-Meßkölbchen; den Vorgang wiederholt man mit 4 ml 0,0015%iger und 3 ml 0,001%iger Dithizonlösung und füllt mit Tetrachlorkohlenstoff zur Marke auf. Hat der dritte Extrakt eine bläuliche Farbe (Zink noch nicht vollständig extrahiert), schüttelt man weiter mit 0,003%iger Dithizonlösung aus und füllt in diesem Fall auf 50 ml auf. Mit jeder Bestimmung läuft ein Blindansatz und eine Kontrolle mit 5 μg Zink. Wenn der Reagensblindwert 0,5 μg übersteigt, müssen die Reagentien gereinigt werden. Man mißt die Extinktion bei 525 und 625 mμ und rechnet nach der Gleichung: Zink (μg) $= (E_{525} - E_{625}/R) \cdot V \cdot K$. Es bedeutet R = Extinktionsverhältnis von Dithizon allein in Tetrachlorkohlenstoff, V = Tetrachlorkohlenstoffextrakt in Millilitern, K = Eichkonstante; sie ist das

Verhältnis der Zinkkonzentration in Mikrogrammen/Milliliter zur Zinkdithizonat-Extinktion ($E_{525} - E_{625}/R$) im Tetrachlorkohlenstoffextrakt. Man erhält sie aus einer Eichkurve mit bekannten Zinkmengen (siehe unten); sie soll bei jedem neuen Pufferansatz neu bestimmt werden. Bei jeder neuen Probe bestimmt man das Extinktionsverhältnis R mit einer frischen 0,001%igen Dithizonlösung. Der Wert für R soll nicht unter 5,5 sinken. — *Natriumthiosulfat-Cyanid-Acetatpufferlösung.* In etwa 2 l Wasser löst man 1330 g $Na_2S_2O_3 \cdot 5\,H_2O$, 224 g $NaC_2H_3O_2 \cdot 3\,H_2O$ und 15 g KCN, stellt mit Eisessig auf p_H 5,7 ein und verdünnt auf 4 l. Die endgültige Einstellung auf p_H 5,7 führt man bei Raumtemperatur am 10fach verdünnten Puffer durch. Zur Entfernung von Metallspuren extrahiert man wiederholt mit 15 ml 0,01%iger Dithizonlösung, bis sie grün bleibt. Nach mehrmaliger Behandlung mit 25 ml Tetrachlorkohlenstoff bewahrt man die Pufferlösung in gut verschlossenem Borosilicatglas auf. — *0,01%ige Dithizonstammlösung.* In einem Scheidetrichter schüttelt man 250 ml einer 0,01%igen Dithizonlösung in Tetrachlorkohlenstoff mit der gleichen Menge einer wäßrigen Lösung, die etwa 250 mg Äthylendiamintetraessigsäure enthält. Man versetzt mit konz. Ammoniak, bis sich das wasserlösliche orange Dithizonation gebildet hat, und verwirft die grünliche organische Phase. Man wäscht 2mal mit je 25 ml Tetrachlorkohlenstoff, setzt 250 ml Tetrachlorkohlenstoff und tropfenweise 6 n Salzsäure hinzu, bis die orange Farbe gerade verschwindet. Die grüne organische Phase hebt man im Dunkeln bei 4—6° C auf. — *Zinkstandardlösung.* 1000 µg/ml spektroskopisch reines Zink löst man in 6 n Salzsäure. Eine Gebrauchslösung von 1 µg/ml muß wöchentlich neu hergestellt werden.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1951—1954 (1958). Havard Med. School a. Peter Bent Brigham Hosp., Boston, Mass. (USA). E. Müller, Würzburg

Zur polarographischen Bestimmung von Pb, Zn und Cu in Harn verwendet F. Candura[1] folgende Methode: Der eingedampfte Harn wird mit $^1/_{20}$ seines Anfangsvolumens konz. Salpetersäure aufgenommen und abermals zur Trockne eingedampft (Pyrex-Schale) und im Muffelofen bei geregelter Temperatur von 300° C verascht. Die weiße Asche wird mit Salzsäure (1:10) aufgenommen. Nach Zusatz von 0,1‰ Gelatine (0,2%ige Lösung) und nach Durchgasen mit Stickstoff (5 min) wird von —0,2 bis —0,6 V auf den *Bleigehalt* (Stufe bei —0,4 V) polarographiert. Die Lösung wird dann mit Ammoniak alkalisch gemacht (2 m), filtriert; es wird 0,1‰ Gelatine zugesetzt, von Sauerstoff befreit und wieder polarographiert. Die *Zn-Stufe* liegt bei —1,3 V, die *Cu-Stufe* bei —0,5 V. Erstere kann mit ÄDTA (10%ig) beseitigt werden.

[1] Boll. Soc. ital. Biol. sperim. **34**, 1389—1390 (1958). Univ. Pavia (Italien). K. Cruse

Über die Bestimmung von Blei- und Wismutspuren in organischem Material berichtet J. C. Gage[1]. Die Störung durch Wismut bei dem vorgeschlagenen Verfahren[2] läßt sich beheben, indem mit 0,1 n Salzsäure das Blei extrahiert und in einer zweiten Extraktion mit 1,75 n Salzsäure das Wismut erfaßt wird. Beide Metalle werden als Dithizonate bestimmt. — *Ausführung.* Das organische Material, z. B. Spinat, wird in einer Quarzschale bei 450° C verascht. Es wird zur Entfernung der letzten Kohlenstoffreste etwas Magnesiumnitratlösung zugesetzt und abermals erhitzt. Die Asche wird in 20%iger Salzsäure gelöst und zur Trockne gedampft. Der Rückstand wird in 2%iger Salzsäure gelöst. Die Lösung wird mit der 2%igen Salzsäure so verdünnt, daß sie, bezogen auf das Ausgangsmaterial, etwa 40%ig ist. Nach den gegebenen Vorschriften[2] werden 10 ml der Lösung weiter behandelt. Aus dem organischen Extrakt wird mit 2—3mal 10 ml 0,1 n Salzsäure das Blei ausgeschüttelt, während anschließend durch doppelte Extraktion mit je 10 ml

1,75 n Salzsäure das Wismut ausgezogen wird. In beiden Säureextrakten wird Blei und Wismut mit Dithizon bestimmt. Beleganalysen zeigen, daß Eisen die Bestimmung nicht stört.

[1] Analyst **83**, 672—674 (1958). Imperial Chem. Ind. Ltd., The Frythe Welwyn, Herts. (England). — [2] Gage, J. C.: Analyst **80**, 789 (1955); **82**, 453 (1957); vgl. diese Z. **153**, 295 (1956). H. Zimmer

Über die Bestimmung einiger Stickstoffkomponenten des Harnes in vermischten Geflügelexkrementen mit Hilfe der Papierchromatographie und der Papierelektrophorese berichten J. Wagner und E. Franzen[1]. Unter den zahlreichen in der Literatur angegebenen Methoden eignet sich zur Extraktion von Kreatin(in), Guanidin und Harnstoff aus den Exkrementen die mit Äthanol im Soxhlet-Apparat unter Zusatz von 1 n Salzsäure (zur Umwandlung von Kreatin in Kreatinin) am besten. Durch 9maliges Ausschütteln mit je 25 ml frischer Lithiumhydroxydlösung erhält man die gesamte Harnsäure. Die Auftrennung der Komponenten erfolgt papierchromatographisch entweder mit n-Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:5) + 30% Methanol oder mit wassergesätt. n-Butanol oder besser noch elektrophoretisch. Die Vorschriften für die colorimetrische Bestimmung der einzelnen Verbindungen sind nicht angegeben.

[1] Arch. Tierernähr. **9**, 11—22 (1959). Inst. Tierernähr., Univ. Halle-Wittenberg. E. Müller, Würzburg

Einen Nachweis von gelbem Phosphor und Phosphiden in biologischem Material beschreiben A. S. Curry, E. R. Rutter und Lim Chin-Hua[1]. Phosphor oder Phosphorwasserstoff werden im Kohlendioxydstrom abgetrieben und als Silberphosphid gebunden. Durch freies Chlor wird der Niederschlag zu Silberphosphat oxydiert und dieses wird durch Elektrophorese von störenden Komponenten, wie z. B. Silberarsenat getrennt. — *Ausführung.* Etwa 20 g der Probe wird mit Wasser aufgeschwemmt. In einer modifizierten Gutzeit-Apparatur wird ein Filterpapierstreifen von 10 × 38 cm eingebracht. Die mit dem Gasstrom in Berührung kommende Fläche soll einen Durchmesser von etwa 0,4 cm haben. Diese Fläche soll zwischen zwei Standardflecken liegen, die aus Arsenwasserstoff bzw. Phosphorwasserstoff unter gleichen Bedingungen hergestellt wurden. Die Papierfläche wird mittels eines Capillarrohres mit methanolischer Silbernitratlösung getränkt. Die Apparatur wird 1,5 Std mit CO_2 durchströmt, wobei zur Bindung von H_2S ein mit basischer Bleiacetatlösung getränkter Glaswollepfropfen benutzt wird. Tritt auf dem Filtrierpapier kein Fleck auf, so wird die Probe angesäuert und weiterhin CO_2 durchgeleitet. Zur Destillation des Phosphors muß die Probe auf 100° C erwärmt werden. Nach dem Ende der Destillation wird der Fleck mit freiem Chlor behandelt. Der Überschuß an Chlor wird mittels eines Luftstromes entfernt. Die Kontrollflecke werden ebenso behandelt. Der Streifen wird in eine Elektrophoreseapparatur eingebracht und mit 5%iger Essigsäure als Elektrolyt besprüht. Bei 3stündiger Behandlung bei 2 Milliamp. und 250 V erreicht man eine gute Arsenat-Phosphattrennung. Das Papier wird bei 100° C getrocknet, mit Phosphatreagens (siehe unten) angesprüht und nach 7 min Erwärmen auf 85° C mit Wasserdampf entwickelt. Anschließend werden die Flecken mit Schwefelwasserstoff behandelt, wobei blaue Flecken auf braunem Hintergrund entstehen. Dieser Nachweis ist sehr empfindlich. — *Phosphatreagens.* 62,5 ml 4%ige Ammoniummolybdatlösung werden mit 25 ml 1 n Salzsäure sowie 12,5 ml 60%iger Perchlorsäure versetzt und mit Wasser auf 250 ml aufgefüllt.

[1] J. Pharmacy Pharmacol **10**, 635—637 (1958). Home Office Forensic Sci. Lab., Harrogate (England). H. Zimmer

Eine schnelle Probe zum Nachweis gewisser jodhaltiger Verunreinigungen im Serum teilen A. Grossmann und G. F. Grossmann[1] mit. Mit dem Verfahren kann man 500 μg Jod/100 ml (oder mehr) nachweisen. Das sind Mengen, die bei gemeinsamer Aufarbeitung von Serumproben zur Jodbestimmung in der Lage sind, Jod an Proben mit geringerem Jodgehalt abzugeben. Es handelt sich bei den hohen Jodmengen um Substanzen, die aus therapeutischen oder diagnostischen Gründen verabreicht wurden. — *Ausführung.* Die Serumproben laufen zusammen mit einer „Kontrolle" in 100×15 mm-Reagensgläsern. Die „Kontrolle" stellt man her, indem man 2 Tr. Normalserum mit 1 Tr. Kaliumjodidstandardlösung (500 μg Jod/100 ml) versetzt. Von den zu prüfenden Seren nimmt man ebenfalls 2 Tr. (0,1 ml). In jedes Glas gibt man 1 Tr. 4 n Natriumcarbonatlösung, schüttelt und erhitzt für 10 min in einem Ofen auf 215—220° C. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur setzt man 0,5 ml Wasser, je 1 Tr. Arsensäurelösung (7,6 g As_2O_5 und 4 g NaOH in Wasser lösen, auf 1 l auffüllen und mit 3,0 ml konz. Schwefelsäure versetzen) und 1,6 n Salzsäure zu und schüttelt. Man fügt noch 1 Tr. Cersulfatgebrauchslösung (siehe unten) hinzu und schüttelt. Wenn der Farbunterschied zwischen der „Kontrolle" und der Mehrzahl der Proben groß ist, gibt man in jedes Glas innerhalb 2 min oder weniger 1 Tr. 1%ige Brucinsulfatlösung und schüttelt wieder. Die Proben mit hohem Jodgehalt sind viel heller als die übrigen Proben, heller oder gleich gefärbt wie die „Kontrolle", selten etwas dunkler als diese. — *Gesättigte Cerammoniumsulfatlösung.* Man fügt einen Überschuß des Salzes zu 7 n Schwefelsäure und läßt über Nacht stehen. — *Cersulfatgebrauchslösung.* Man mischt gleiche Teile der gesätt. Lösung und 7 n Schwefelsäure und stellt die Lösung folgendermaßen genau ein: In ein Reagensglas (100×15 mm) gibt man 1 Tr. Kaliumjodidstandardlösung, 1 Tr. 4 n Natriumcarbonatlösung, 0,5 ml Wasser, je 1 Tr. Arsensäurelösung, 1,6 n Salzsäure und Cersulfatgebrauchslösung und schüttelt. Die gelbe Farbe soll dann in 2 min (±15 sec) verschwinden. Vergeht mehr Zeit, muß man der Gebrauchslösung etwas mehr 7 n Schwefelsäure zusetzen, im entgegengesetzten Falle mehr gesätt. Cerammoniumsulfatlösung.

[1] Clin. Chemistry 4, 296—299 (1958). Grace Labs., Ridge Ave., Philadelphia, Pa. (USA). E. Müller, Würzburg

Die zur Anaesthesie nach Schleich benutze Mischung von Diäthyläther, Chloroform und Äthylchlorid sowie deren Gehalt in Organen untersuchen E. Gloesener, C. L. Lapière und J. Versie[1] gaschromatographisch. Zur Trennung dieser Substanzen haben sich Säulen mit Siliconöl als stationärer Flüssigkeit als am besten erwiesen. Zur Extraktion der Schleichschen Mischung aus Geweben wird Isopropanol (Verfahren I) bzw. Trichloräthylen (Verfahren II) benutzt. — *Analyse nach Verfahren I.* 300—400 g bei —18° C aufbewahrtes Gehirn werden zerkleinert und in einem 2 l-Kolben mit 1 l Eiswasser versetzt. Der Kolben wird in eine Apparatur zur Wasserdampfdestillation an einen 1 m langen Kühler angeschlossen. In die Vorlage (750 ml) werden 100 ml Isopropanol vorgelegt und mittels Eis-Kochsalzmischung auf —15° C gekühlt. Der Vorstoß am Kühler taucht in den Alkohol ein. Nachdem 500 ml Wasser übergegangen sind, wird die Vorlage an eine 60 cm lange Rektifikationskolonne angeschlossen, wobei wiederum der an der Kolonne angebrachte Vorstoß in das Isopropanol (10 ml) der 100 ml fassenden, auf —15° C gekühlten Vorlage ragt. Nachdem 50 ml überdestilliert worden sind, wird das Destillat nochmals rektifiziert mit einem Claisen-Vigreux-Aufsatz, dessen Vorstoß in eine 0,5 ml Isopropanol enthaltende, auf —15° C gekühlte Vorlage reicht. Es werden 5 ml überdestilliert und davon 0,01—0,03 ml zur chromatographischen Analyse benutzt. Die gaschromatographische Trennung wird bei 75° C und einem Durchfluß von 70 ml Trägergas Wasserstoff/min an einer hintereinandergeschalteten Säule von

1 m Triäthanolamin/Celite (C_{22}) und 2 m Siliconöl/Celite (C_{22}) durchgeführt. — *Analyse nach Verfahren II.* Die Extraktion des Gewebes und die Anreicherung der Schleichschen Mischung wird mit Trichloräthylen an Stelle von Isopropanol analog Verfahren I ausgeführt. Etwa bei der Destillation übergegangenes Wasser wird durch Ausfrieren auf −15°C abgeschieden. Die gaschromatographische Trennung wird bei 70°C und einem Durchfluß von 50 ml Wasserstoff/min an hintereinandergeschalteten Säulen von 1 m Paraffinwachs/Celite und 2 m Siliconöl/Celite ausgeführt.

[1] J. Pharmac. Belgique, N. S. **13**, 389—401 (1958). Univ. Lüttich (Belgien).
E. Bayer

Eine einfache Bestimmung des Blutalkohols im klinischen Labor beschreibt A. Mather[1]. Ein aliquoter Teil des entnommenen Blutes wird ohne vorherige Aufbereitung einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Vom Destillat (15 ml bei 3 ml Blut, 25 ml bei 5 ml) nimmt man 1 ml, das mit 1 ml Wasser verdünnt wird und 2 ml, setzt jeder Probe 5 ml 0,1%iges Kaliumdichromat-Reagens [50 ml 2%ige Kaliumdichromatlösung + 1 l verdünnte Schwefelsäure (1:5)] zu, erhitzt 45 min auf 100—103° C, kühlt unter fließendem Wasser ab und colorimetriert bei 445 oder 400 mμ gegen Standardlösungen verschiedener Konzentration (von 10 bis 40 mg/100 ml).

[1] Clin. Chemistry **4**, 223—231 (1958). Memorial Hosp., Wilmington, Del. (USA).
Ursula Baumann

Über die Identifizierung und Bestimmung von Diäthyl-p-nitrophenylthiophosphorsäureester (E 605) in Geweben und Blut berichtet E. Vidic[1] unter Berücksichtigung der einschlägigen Literatur sehr ausführlich. Mit dem von Verf. ausgearbeiteten Verfahren läßt sich E 605 zu rund 80% ziemlich rein aus den Leichenorganen gewinnen und bestimmen. Die wesentlichen Schritte des Verfahrens sind: 1. Methanolextraktion des mit wasserfreiem Natriumsulfat getrockneten Organpulvers. 2. Adsorption an Aktivkohle und 3. Extraktion der Aktivkohle mit Dichlormethan und Reinigen des Extraktes über Al_2O_3 (Woelm). Wenn die umfangreichen Vorschriften exakt eingehalten werden, kann man E 605 von dem schwefelfreien Diäthyl-p-nitrophenylphosphorsäureester (E 600, Paraoxon), von dem als Spaltprodukt von E 605 auftretenden p-Nitrophenol und von dem Emulgator trennen, der dem „E 605 forte" zugesetzt ist. Ferner lassen sich Pharmaka abtrennen, die auch eine positive Reaktion nach P. R. Averell und M. V. Norris[2] geben, mit der die Bestimmung erfolgt. Papierchromatographisch läßt sich E 605 wie andere Nitroverbindungen durch Reduktion mit Titantrichlorid und Ammoniak sichtbar machen (weißer Fleck auf grauem Untergrund). Danach ist noch eine Identifizierung von E 605 mit Natriumnaphthochinonsulfat oder p-Dimethylaminobenzaldehyd möglich. Dadurch sind wenige Mikrogramme E 605 nachweisbar und von E 600 und anderen Nitroverbindungen zu unterscheiden.

[1] Arzneimittel-Forsch. **8**, 719—726 (1958). Inst. gerichtliche u. soziale Med., Freie Univ. Berlin. — [2] Analyt. Chemistry **20**, 753 (1948); vgl. diese Z. **133**, 237 (1951).
E. Müller, Würzburg

Zur quantitativen Bestimmung von freien Fettsäuren im Plasma empfehlen L. A. Carlson und L. B. Wadström[1] eine colorimetrische Methode, die sich gut für Routineanalysen eignet und die sehr spezifisch für Fettsäuren mit mehr als 14 C-Atomen ist. — *Arbeitsweise.* 2 ml der Plasmaprobe werden zur Fettextraktion in einem 50 ml-Meßkolben mit 16 ml Methanol und 20 ml Chloroform versetzt und kurz aufgekocht. Man läßt abkühlen, füllt mit Chloroform zur Marke auf,

filtriert durch ein fettfreies Filterpapier, überführt 40 ml vom Filtrat in einen Scheidetrichter, gibt 10 ml 0,5 m NaH_2PO_4-Lösung zu, schüttelt und läßt zur Phasentrennung über Nacht stehen. Die Chloroformschicht wird dann auf etwa 2 ml eingedampft (Wasserbad). Der erhaltene Fettextrakt wird zur Abtrennung der Phospholipoide durch eine chromatographische Säule (innerer ∅ 7 mm) filtriert, die mit einem Gemisch aus 0,5 g aktivierter Kieselsäure (18 Std bei 110° C) und 0,25 g Hyflo Supercele bepackt ist; das Gemisch wird mit Petroläther in die Säule eingeschlämmt und danach mit Chloroform gewaschen. Mit 20 ml Chloroform wird nachgewaschen. Das Eluat wird bis fast zur Trockne verdampft, der Eindampfrückstand in etwa 4 ml Äther-Alkohol-Gemisch gelöst (der Äther wird mit Calciumchlorid getrocknet, danach über Ätzkali destilliert und mit 95%igem Äthanol im Verhältnis 95:5 gemischt) und die Lösung zur Abtrennung der freien Fettsäuren mit einer Fließgeschwindigkeit von etwa 10 Tr./min durch eine Austauschersäule (innerer ∅ 7 mm) filtriert, die mit Amberlite IRA-400 bepackt ist und wie unten angegeben vorbereitet wird. 2 mal mit jeweils 4 ml Äther-Alkohol-Gemisch wird nachgewaschen. Anschließend gibt man 4 ml essigsaure Äther-Äthanol-Lösung auf die Säule (das Äther-Alkohol-Gemisch wird mit 5%igem Eisessig versetzt), schließt den Auslaufhahn, läßt die Säule etwa 18 Std stehen, entnimmt das Eluat und eluiert dann noch 2mal mit je 4 ml essigsaurer Äther-Äthanol-Lösung bei der oben angegebenen Tropfgeschwindigkeit (während der Elution muß unbedingt darauf geachtet werden, daß das Harz ständig benetzt ist). Das Eluat wird in einem Mikro-Kjeldahl-Kolben aufgefangen und im Vakuum (bei 15 mm Quecksilbersäule) zur Trockne verdampft. Man löst den Rückstand in 1 ml Methanol, versetzt vorsichtig mit 0,5 ml frisch dest. Thionylchlorid, verdampft unter Absaugen der Lösungsmitteldämpfe bei reduziertem Druck (15 mm Hg-Säule) erneut zur Trockne, gibt dann 3 ml peroxydfreien Äther und 0,1 ml frisch bereitete alkalische Hydroxylaminlösung zu. (Gleiche Volumen der 3%igen Lösungen von Natriumhydroxyd und Hydroxylaminhydrochlorid in 95%igem Äthanol werden gemischt und nach 15 min filtriert.) Man verdampft den Äther bei 62—68° C, saugt bei reduziertem Druck die überschüssige Reagenslösung ab, versetzt zur Hydroxamsäurereaktion mit 4 ml Eisenreagens [0,5 g Eisen(III)-perchlorat in 487 ml 95%igem Äthanol und 13 ml 70%iger Perchlorsäure; die Lösung ist bei 4° C etwa 2 Wochen haltbar] und mißt die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung nach 30 min bei 520 mμ. Ein Blindversuch wird entsprechend durchgeführt. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Zum Aufstellen der Eichkurve werden Standardlösungen in der beschriebenen Weise analysiert. Bis zu 4,0 mÄqu. Fettsäure folgt die Kurve dem Beerschen Gesetz. Der Fehler der Methode ist mit ± 0,02 mÄqu. Fettsäure/l Plasma angegeben. — *Vorbereitung der Austauschersäule.* Das Harz (0,5 g) wird erst mit 1 n Salzsäure, dann mit 1 n Natronlauge 2mal regeneriert, anschließend mit dest. Wasser neutral gewaschen und in die Säule eingeschlämmt. Mit 5 ml Äthanol, danach noch einige Male mit Äther-Alkohol-Gemisch, wird nachgewaschen.

[1] Scand. J. clin. Lab. Invest. **10**, 407—414 (1958). King Gustav V Res. Inst., Karolinska Sjukhuset, Stockholm (Schweden). K. Machner

Die Papierchromatographie von Eierlecithinen führen Y. Inouye und M. Noda[1] durch. Die *Lecithine* werden zunächst nach der Methode von M. C. Pangborn[2] gereinigt. Zu 20—30 mg des so gewonnenen Materials gibt man einen 20%igen Überschuß von Quecksilberacetat sowie 0,4 ml abs. Methanol und erhitzt die Mischung am Rückfluß 30 min auf 80° C. Man verdünnt mit 0,6 ml n-Butanol, setzt 3 ml Wasser zu, schüttelt um und verwendet die Butanolschicht zur Chromatographie. Diese wird auf Toyo-Papier Nr. 2 ausgeführt, das mit Tetralin (stationäre

Phase) besprüht ist. Man chromatographiert 5—6 Std aufsteigend bei 30° C mit Methanol (90%ig)/Essigsäure/Tetralin (10:2:1), läßt über Nacht an der Luft trocknen und besprüht das Chromatogramm mit einer 0,2%igen Lösung von Diphenylcarbazon in Alkohol. Es treten 5 purpur- bis blaurote Flecke auf (R_f-Werte 0,54, 0,62, 0,72, 0,77 und 0,83), die den Acetoxymercurimethoxy-Derivaten der Lecithine zugeordnet werden können. (Nach Elution der Flecke mit Methanol und Hydrolyse mit 5%iger Salzsäure erhält man die freien Lecithine unverändert zurück. Bei Besprühen mit Phosphomolybdat-Zinn(II)-chloridlösung oder dem Molybdänsäurereagens auf Phosphatester erscheinen blaue Flecke.) Die mercurierten Lecithine werden weiter auf ihre Zusammensetzung bzw. ihren Fettsäuregehalt untersucht. Sie werden gesondert eluiert und mit einem Überschuß von 0,5 n alkoholischer Kalilauge 2 Std unter Stickstoff hydrolysiert. Man verdampft den Alkohol, nimmt den Rückstand in Wasser auf und äthert aus. Die wäßrige Phase wird angesäuert und die *freien Fettsäuren* mit Petroläther extrahiert, Nach Verdampfen des Lösungsmittels neutralisiert man mit 0,05 n alkoholischer Kalilauge, kocht 2 Std mit einer äquivalenten Menge p-Bromphenacylbromid am Rückfluß und überführt die entstehenden Ester durch Zugabe eines geringen Überschusses einer 1%igen Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 2 n methanolischer Salzsäure in die entsprechenden 2,4-Dinitrophenylhydrazone. Nach 3 Std Stehen extrahiert man diese mit Äther, teilt die Lösung und versetzt einen Teil mit einem 50—100%igen Überschuß von Quecksilber(II)-acetat in abs. Methanol und erhitzt 40 min auf 40° C. Dann gibt man zu beiden Teilen nacheinander Benzol und Wasser und chromatographiert jeweils mit der oberen Schicht des Gemisches aufsteigend auf Toyo-Papier Nr. 2 5—8 Std bei 30° C mit Ligroin („Petroleum, Hydrocarbon") (KP 185—215° C) als stationäre Phase und Methanol/Essigsäure/Ligroin (10:2:1) als Lösungsmittel. Die auftretenden gelben Flecke werden mit Benzol eluiert, und die enthaltene Menge Fettsäure wird durch Absorptionsmessung bei 375 mμ in einem Beckman-Spektrophotometer bestimmt. Die Werte für *Myristin-*, *Palmitin-*, *Stearin-*, *Arachidin-*, *Hexadecenon-*, *Olein-*, *Octadecadien-*, *Octadecatrien-*, *Arachidon* und *C_{20}—C_{22}-Pentaen-Säure* sind angegeben. Um die Verteilung der Fettsäuren auf die α- oder β-Stellung zu untersuchen, werden die Lecithine mit der *Lecithinase A* aus *Agkistrodon blomhoffii*-Schlangengift gespalten, die nur Fettsäuren in α-Stellung angreift. Die Ergebnisse lassen schließen, daß die ungesätt. Säuren vorwiegend in β-Stellung, die gesättigten in α-Stellung gebunden sind.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **76**, 271—285 (1958). Kyoto Univ. and Saikyo Univ., Kyoto (Japan). — [2] J. biol. Chemistry **188**, 471 (1951). Ursula Baumann

Eine Methode zur Bestimmung von Äthylenglykol in Körperbestandteilen geben R. N. Harger und R. B. Forney[1] an. Das Prinzip des Verfahrens wird durch die Gleichung $C_2H_4(OH)_2 + HJO_4 \rightarrow 2\,HCHO + HJO_3 + H_2O$ ausgedrückt. Der Formaldehyd wird mit Schiffs-Reagens photometrisch bestimmt. Glucose stört nicht. — *Ausführung. Blut.* 1 ml Blut versetzt man mit 7 ml Wasser, 1 ml 10%iger Natriumwolframatlösung und unter kräftigem Schütteln tropfenweise mit 1 ml 0,66 n Schwefelsäure. Nach Verschließen schüttelt man kräftig und filtriert durch ein trockenes Filter. In einem kleinen Reagensglas versetzt man 1 ml eiweißfreies Filtrat mit 4 ml Wasser, 0,25 ml 0,1 m Perjodsäurelösung in 0,33 n Schwefelsäure, schüttelt und läßt 10 min stehen. Man setzt schnell 2 ml Schiffs-Reagens (siehe unten) zu und mißt nach 25 min die Extinktion bei 555 mμ gegen einen Blindansatz mit Wasser. Die Werte entnimmt man einer Eichkurve mit 10—70 μl Äthylenglykol in Wasser. Bei Mengen über 30 μl muß man auf das 2—3fache verdünnen. — *Harn.* Verdünnten Harn behandelt man wie eiweißfreies Blutfiltrat. — *Gewebe.* Man homogenisiert 50 g Gewebe mit 200 ml Wasser, versetzt

25 ml Homogenat mit 15 ml Wasser, 5 ml Natriumwolframatlösung und unter Schütteln mit 5 ml 0,66 n Schwefelsäure. Das eiweißfreie Filtrat behandelt man wie das entsprechende Blutfiltrat. — *Modifiziertes Reagens nach Schiff.* 0,2 g basisches Fuchsin löst man unter Kochen in einem 200 ml-Kolben in 120 ml Wasser und kühlt unter der Wasserleitung auf Raumtemperatur. 2 g Natriummetabisulfit löst man in 20 ml Wasser, versetzt die Fuchsinlösung damit und fügt noch 2 ml konz. Salzsäure sowie 60 ml Wasser hinzu. Die Lösung wird in einigen Minuten klar und hält sich in Glasstöpselflaschen im Kühlschrank 2—3 Wochen. Wenn sie braun wird, ist sie unbrauchbar.

[1] J. forensic Sci. **4**, 136—143 (1959). School Med., Univ. Indianapolis, Ind. (USA). E. Müller, Würzburg

Aminosäuren. *Zur Bestimmung von γ-Aminobuttersäure (ABS) und Glutaminsäure (GS) nebeneinander in Gehirnextrakt* verwenden A. Hanson und W. von Studnitz[1] die Hochspannungselektrophorese nach Th. Wieland und G. Pfleiderer[2] und geben als Vorschrift an: Auf Papier Nr. 214 (Macherey u. Nagel) wird mit 55 V/cm (2100 V Spannung) 75 min elektrolysiert. Als Pufferlösung dient ein Gemisch konz. Ameisensäure/Eisessig/Wasser (15:10:75). 8 cm von der Anode entfernt werden 0,0005—0,03 ml alkoholischer Gewebeextrakt aufgetragen. GS wandert in 75 min 10,5, ABS 15,8 cm zur Kathode. Nach der Elektrolyse wird 30 min bei 75° C getrocknet; anschließend wird mit 0,5%iger Ninhydrinlösung besprüht [in Butanol, das mit einem Pyridin/Eisessig/Wassergemisch (10:1:95) gesättigt wurde]. Das Pherogramm wird 20 min bei 40° C vor dem Ventilator getrocknet, die Färbung dann noch 20 min bei 65° C entwickelt. Mit Kupferreagens nach F. G. Fischer u. H. Dörfel[3] wird dann der Kupferkomplex hergestellt, der mit Methanol eluiert und schließlich bei 504 mμ vermessen wird. Es wird mit Leer- und mit Standardvergleichsstreifen gearbeitet. Ist Glycin zugegen, so wird besser bei p_H 3,5 (Eisessig/Pyridin/Wasser wie 15:1:89) gearbeitet.

[1] Acta chem. scand. **12**, 1332-1333 (1958). Allg. Krankenhaus, Malmö (Schweden). — [2] Angew. Chem. **67**, 257 (1955); vgl. diese Z. **149**, 125 (1956). — [3] Biochem. Z. **324**, 544 (1953); vgl. diese Z. **159**, 388 (1957/58). K. Cruse

Eine Methode zur Bestimmung von freiem Lysin im Harn mit zweidimensionaler Papierchromatographie teilt L. F. Kerley[1] mit. Nach Voruntersuchungen gelingt bei p_H 1—2 eine gute *Trennung von Lysin, Arginin und Ornithin.* — *Ausführung.* Den 24 Std-Harn sammelt man in einem Gefäß mit 50 ml 1,5 n Salzsäure und füllt mit Wasser auf 2 l auf ($p_H \sim 2$). Dann trägt man 100 μl auf Whatman-Papier Nr. 1 (30 × 30 cm) etwa 4 cm vom unteren und 2,5 cm vom linken Rand entfernt tropfenweise unter Trocknen auf, daß der Fleck einen Durchmesser von etwa 1,5 cm bekommt. Rund 8 cm rechts von dieser Stelle trägt man als Vergleichssubstanz 8 μl einer Lysinlösung von p_H 2 (Salzsäure), die 1 μg/μl enthält, derart auf, daß der Fleck den gleichen Durchmesser wie der erste bekommt. Man chromatographiert bei 20—22° C in 80%igem Phenol, nachdem das Papier 18 Std der Phenolatmosphäre ausgesetzt war; dann trocknet man 3 Std bei Raumtemperatur und anschließend für 6 Std bei 35—40° C. In der zweiten Richtung chromatographiert man 24 Std mit einer 65%igen Lösung einer Mischung von 2,4- und 2,5-Lutidin nach vorheriger 2—3stündiger Äquilibrierung. Nach dem Trocknen besprüht man mit einer 0,1%igen Ninhydrinlösung in 95%igem Alkohol und läßt über Nacht bei Raumtemperatur trocknen. Auf dem ausgeschnittenen Streifen, der den Probenfleck und den Vergleichsfleck (8 μg Lysin) aufweist, bestimmt man Milligramme Lysin/24 Std in üblicher Weise mit einem Auswertgerät.

[1] J. Lab. clin. Med. **53**, 149—155 (1959). Univ. a. Royal Women's Hosp., Melbourne (Australien). E. Müller, Würzburg

Über die voltammetrische Bestimmung von Histidin in Milligramm-Mengen berichtet B. Jaselskis[1]. Gibt man zu einer auf p_H 8,0 gepufferten Histidinlösung Kobalt(II)-salz, so bildet sich Bihistidinatokobalt(II), das sich amperometrisch bestimmen läßt: $Co^{II}(hi_2) = Co^{III}(hi)_2^+ + e$. Histamin, die meisten anderen Aminosäuren sowie *Eiweißhydrolysate* stören nur wenig; der durchschnittliche Fehler beträgt $-6{,}0\%$. Tryptophan >1 mg/10 ml, Glycin >15 mg/10 ml und Aminosäuren mit Mercaptogruppen stören mehr. Die günstigste Histidinkonzentration liegt bei $6{,}0 \cdot 10^{-4}$ bis $2 \cdot 10^{-3}$ m. Liegt weniger Histidin vor, muß man bekannte Mengen zusetzen.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1968—1971 (1958). Univ. Ann Arbor, Mich. (USA).
E. Müller, Würzburg

Zur quantitativen immunologischen Bestimmung von Plasmaproteinen geben H. E. Schultze und G. Schwick[1] folgende colorimetrische Methode an: 0,05 ml einer bestimmten Verdünnung des Serums mit bekanntem Eiweißgehalt (Biuret-Bestimmung) wird bei Raumtemperatur 15 min, mit 0,5 ml Antiserumverdünnung vermischt, stehen gelassen, dann bei 450 mμ photometriert und die Extinktion mit derjenigen des Gemisches von 0,5 ml Antiserum mit 0,05 ml Pufferlösung als Blindprobe verglichen. Die Verdünnung wird so gewählt, daß die gemessenen Extinktionen in den Meßbereich von Bezugskurven fallen; als Verdünnungslösung werden Lösungen von 11,9 g Na_2HPO_4 und 9,1 g KH_2PO_4 in je 1 l physiologischer Kochsalzlösung verwendet (0,066 m); 85,2 ml der ersten Lösung werden stets mit 14,8 ml der zweiten vermischt. Antiproteinsera vom Kaninchen werden mit konstant gehaltener, geeigneter Verdünnung in gleicher Weise nach Versetzen mit abgestuften Mengen der verschiedenen Proteinantigene (in 0,05 ml Pufferlösung) zur Herstellung der Bezugskurven verwendet. Unspezifische Antikörper werden zuvor durch Adsorption an das jeweilige Begleitprotein aus dem Antiserum entfernt. Da die Immunpräcipitate im Überschuß des Antigens löslicher werden, wird nur der Anstieg der Extinktionskurve zur Analyse verwendet. 9 Einzelproteine können bestimmt werden: *Präalbumin, Albumin, α_2-Makroglobulin, Coeruloplasmin, β_1-Globulin (Transferrin), γ-Globulin, Fibrinogen,* α_2- und *β-Lipoprotein.* Die Bestimmung der Normalwerte an Humanserum wird an Analysen nach M. Heidelberger und F. E. Kendall[2] angelehnt. Erfassungs- und Streubreite der Methode und die Anwendung der Methode zu diagnostischen Zwecken werden diskutiert.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 15—25 (1959). Behringwerke AG., Marburg/Lahn. — [2] J. exp. Medicine **55**, 555 (1932). K. Cruse

Über eine neue Methode, an die α- oder β-Lipoproteine des Serums gebundenes Cholesterin zu bestimmen, berichten M. Burstein und J. Samaille[1]. Diese beruht darauf, daß durch Dextransulfat (synthetisches Heparinoid) in Gegenwart von Calciumchlorid die β-Lipoproteine des Serums gefällt werden, während die α-Lipoproteine in Lösung bleiben. Durch eine Cholesterinbestimmung vor und nach der Fällung kann entschieden werden, wieviel Cholesterin jeweils an einer Fraktion hängt. Es werden die Seren von normalen Personen, Wöchnerinnen, Neugeborenen und pathologischen Fällen untersucht. Bei Wöchnerinnen und Kranken ist der Cholesterinspiegel erhöht, der Anstieg liegt in der β-Fraktion. Bei Neugeborenen ist der Cholesterinspiegel niedriger als bei Erwachsenen. — *Arbeitsweise.* Zu je 1 ml Serum von Nüchternenblut gibt man 0,02 ml 10%ige Dextransulfatlösung, schüttelt um und versetzt mit 0,10 ml 1 m Calciumchloridlösung. Der entstehende Niederschlag wird 10 min bei 6000 bzw. 10000 U/min abzentrifugiert und das Cholesterin in dem nun von β-Lipoproteinen und Chylomicronen befreiten Serum

nach der Methode von S. Pearson, S. Stern und T. H. McGavack[2] bestimmt. Der Gesamtcholesteringehalt wird nach derselben Methode ermittelt.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 320—327 (1958). Centre National de Transfusion Sanguine, Paris (Frankreich). — [2] Analyt. Chemistry **25**, 813 (1953); vgl. diese **Z. 146**, 158 (1955). Ursula Baumann

Eine Artspezifität von Serumalbumin stellt M. Sogami[1] bei der turbidimetrischen Titration mit Ammoniumsulfat fest. Die Seren von *Mensch, Ziege, Kaninchen* und *Rind* zeigen zwar charakteristische Unterschiede bei der Elektrophorese, die Albuminfraktion wandert jedoch bei allen gleich. Bei der turbidimetrischen Titration[2] erhält man dagegen Maxima, die für jede Art spezifisch sind.

[1] J. Biochemistry (Tokyo) **45**, 349—358 (1958). Univ. Kyoto (Japan). — [2] Sogami, M., Y. Momotani u. Y. Inoue: J. Biochemistry (Tokyo) **44**, 137 (1957); vgl. diese **Z. 163**, 157 (1958). Ursula Baumann

Eine Mikromethode für die Bestimmung von Blut-Galaktose mittels Glucose-Oxydase (Notatin) hat G. Søndergaard[1] ausgearbeitet. — *Arbeitsweise.* In einem Pyrexglas (100 × 14 mm) versetzt man 1 ml frisch dest. Wasser mit 0,1 ml Blut, schüttelt um und läßt etwa 2 min lang bis zur völligen Hämolyse stehen. Dann gibt man 0,2 ml einer Lösung von 1 mg Glucose-Oxydase in 1 ml 3,5%iger Kaliumdihydrogenphosphatlösung zu, mischt sorgfältig, verschließt das Glas mit einem Gummistopfen und bringt es für 90 min in ein Wasserbad von 37° C, wobei man in Abständen von 20—30 min umschüttelt. Nun versetzt man den Inhalt des Glases mit 0,5 ml 0,3 n Bariumhydroxydlösung, mischt, gibt nach 3—4 min langem Stehen 0,2 ml 10%ige Zinksulfatlösung zu, mischt wieder und zentrifugiert nach weiterem 2 min langem Stehen 30 min lang mit 3000 U/min. Schließlich beschickt man ein Pyrex-Reagensglas mit 5 ml Anthron-Reagenslösung (siehe unten), kühlt das Reagens in Eiswasser und läßt 1 ml des blanken Zentrifugates an der Wand des Glases entlang in die Anthronlösung laufen. Man mischt unter ständigem Kühlen, verschließt das Glas, bringt es in ein stark siedendes Wasserbad, so daß die Reaktionslösung 2 cm tief unter die Oberfläche des Wasserspiegels taucht und erhitzt genau 4 min lang. Dann bringt man die Röhre in Eiswasser, anschließend, vor Licht geschützt, auf Raumtemperatur und bestimmt in einem Zeiß-Spektrophotometer bei 620 mμ die Extinktion des Ansatzes gegen eine Leerprobe der Reagentien. Durch Vergleich mit der Farbtiefe analog behandelter Galactose-Standardlösungen (100 mg/100 ml) kann der Gehalt des Blutes an diesem Zucker ermittelt werden (Diagramme der Lichtabsorptionen im Original). — *Anthron-Reagenslösung.* Man bringt vorsichtig 1000 ml konz. analysenreine Schwefelsäure in kleinen Anteilen in 200 ml Wasser und löst nach dem Erkalten in 500 ml dieser Verdünnung 1 g Anthron. Das Reagens ist, im Kühlschrank aufbewahrt, 1—2 Wochen haltbar.

[1] Scand. J. clin. Lab. Invest. **10**, 203—210 (1958). Dep. Med., Aarhus Amtssygchus (Dänemark). K. Söllner

Ein colorimetrisches Verfahren zur Bestimmung von Insulin hat E. L. Fenton[1] nach dessen chromatographischer Abtrennung ausgearbeitet. — *Arbeitsweise.* Man bringt mit einer Mikropipette etwa 10 mg Insulin entsprechende Mengen des Untersuchungsmateriales und einer Insulin-Standardlösung in selbst hergestellte (Angaben im Original), etwa 1,2—1,4 ml fassende, genau kalibrierte Meßgläschen, trocknet die Proben 24—48 Std lang über Phosphorpentoxyd und wägt die

Trockenrückstände. Dann bringt man etwa 0,05 n Salzsäure in die Gläschen, löst deren Inhalt auf und füllt mit der gleichen Säure bis zur Marke auf. Nun bringt man mit einer Mikropipette, die man an der Außenseite, um eine Benetzung mit der Insulinlösung zu verhüten, mit etwas Petroleum befeuchtet, auf 12 Streifen von Whatman-Papier Nr. 1 von 13 × 28,5 cm Größe, 4 cm vom unteren Rande entfernt, je 2 Proben der Analysen- und Insulin-Standardlösung mit je etwa 40—60 μg Insulin im Abstand von je 2,5 cm. Der Durchmesser der Flecken soll nicht mehr als 1 cm betragen. Man trocknet bei Raumtemperatur, faltet die Papiere der Länge nach und bringt sie zur Äquilibrierung 4—16 Std lang in die Entwicklungskammer. Man entwickelt aufsteigend mit der oberen Phase eines Gemisches aus Butan-2-ol und 1%iger Essigsäure (1:1, v/v) bei Raumtemperatur bis die Lösungsmittelfront 20 cm weit hochgestiegen ist. Dann preßt man die Streifen zwischen Filtrierpapier ab und trocknet sie 10 min lang bei 80° C. Man legt sie dann über Nacht (15 Std) in die Protein-Färbelösung (siehe unten), wäscht sie am nächsten Tage 4mal je 3 min lang mit 1%iger Essigsäure aus, preßt sie wieder ab und trocknet sie nochmals 10 min lang. Dann hält man die Papiere zur Intensivierung der Färbung über eine Schale mit 5 n Ammoniak. Man markiert nun die Flecken mit dem höchsten R_f-Wert durch Umrandung mit einem Bleistiftstrich, schneidet sie aus und eluiert jeden Ausschnitt sowie eine gleichgroße Papierscheibe aus einem der Chromatogramme mit je 5 ml einer Mischung gleicher Volumen 0,1 n Natronlauge und 95%igem Alkohol 30 min lang unter häufigem Umschütteln. Dann ermittelt man die Extinktion jedes Eluates in einer 10 mm-Küvette bei 625 mμ und vergleicht mit den aus den Standardflecken erhaltenen Werten. — *Protein-Färbelösung.* Man verdünnt 12 ml Essigsäure auf 2 l, gibt 125 ml 0,1 n Natronlauge zu und löst in dieser, p_H 3,6 zeigenden Mischung Bromkresolgrün zu 0,02%. Die Lösung ist etwa 2 Wochen lang verwendbar.

[1] Biochemic. J. **71**, 507—513 (1959). Wellcome Res. Labs., Langley Court, Beckenham, Kent (England). K. Söllner

Eine Methode zur fluorimetrischen Bestimmung von Thymin in Desoxyribonucleinsäure und -derivaten geben D. W. Roberts und M. Friedkin[1] an. Das Prinzip beruht auf der Kondensation von Acetol (I) mit o-Aminobenzaldehyd zu dem stark fluorescierenden 3-Hydroxychinaldin. Bromwasser gibt mit Thymin 5-Brom-6-hydroxyhydrothymin, das bei Alkalianwesenheit in Thyminglykol übergeht und das seinerseits hydrolytisch I liefert. Außer Thymin geben noch *5-Methylcytosin*, *Thymidin*, *Thymidinsäure* und *Desoxyribonucleinsäure* die Reaktion. Es ist sogar eine direkte Bestimmung ohne Vorreinigung im Homogenat möglich. Mit Mikroküvetten ist noch eine Bestimmung des aus 50 μg Desoxyribonucleinsäure erhaltenen Thymins möglich. — *Ausführung.* Zu 5,14 μl einer Lösung, die 0,002—2,0 μg Thymin in 0,01 m Dinatriumäthylendiamintetraacetatlösung (II) enthält, fügt man 3,36 μl 0,125 gesätt. Bromwasser (vor Gebrauch ansetzen) und läßt 20 min bei Raumtemperatur stehen. Die Mischung versetzt man mit 19,07 μl alkalischer o-Aminobenzaldehydlösung (5 Teile 0,3 n Natronlauge in 0,01 m II + 2 Teile o-Aminobenzaldehydstammlösung, siehe unten) und beläßt 20 min bei 65° C. Schließlich verdünnt man mit 1,0 ml 0,1 m Kaliumphosphatpufferlösung, p_H 6,9, und mißt die Fluorescenz gegen Blindansätze mit Wasser statt Bromwasser. Für Bestimmungen mit 1 ml benutzt man Pyrex-Kulturgläser mit 75 zu 10 mm Außendurchmesser, für Mikrobestimmungen (50 μl) Küvetten nach O. H. Lowry, N. R. Roberts, K. Y. Leiner, M. Wu und A. L. Farr[2]. Das erregende Licht passiert Corning Glasfilter Nr. 5840; als Sekundärfilter dienen Nr. 5113 und 3389. — *o-Aminobenzaldehydstammlösung.* 100 mg o-Nitrobenzaldehyd, 1,8 g Eisen(II)-sulfat und 3 ml 15 n Ammoniak erhitzt man 30—60 min am Rückfluß-

kühler. Durch Dampfdestillation erhält man 5—10 ml einer Stammlösung, die sich bei 4° C mindestens 1 Woche hält.

[1] J. biol. Chemistry **233**, 483—487 (1958). Univ. St. Louis, Mo. (USA). — [2] J. biol. Chemistry **207**, 1 (1954). E. Müller, Würzburg

Eine Methode zur spezifischen colorimetrischen Bestimmung von Phlorrhizin in biologischen Flüssigkeiten teilen F. A. Jenner und D. H. Smyth[1] mit. Die Methode beruht auf dem Prinzip der Wasserstoffperoxydbestimmung mit Phlorrhizin nach G. Lehongre, J. Neumann und J. Lavollay[2], das sich bei gegebener, konstanter H_2O_2-Menge zur Phlorrhizinbestimmung benutzen läßt. Von Phlorrhizinderivaten gibt nur Phloroglucin die Reaktion. Durch Butanolextraktion lassen sich andere störende Substanzen eliminieren. Nach Ermittlung optimaler Bedingungen ergibt sich folgendes Verfahren. — *Ausführung. Extraktion von Phlorrhizin. 1. Aus Plasma.* 4 ml Plasma versetzt man mit 5 ml Butanol und 1 Tr. konz. Salpetersäure, schüttelt 3 min und zentrifugiert 10 min bei 3000 U/min zur Beseitigung der Emulsion. Zu 3 ml Butanolphase gibt man 5 ml Boratpufferlösung (9 Teile 0,1 m Dinatriumtetraborat + 1 Teil 0,4 m Borsäure; p_H 9,1), schüttelt 3 min und sammelt die wäßrige Phase. *2. Aus Galle.* Zum Entfärben mischt man 1 ml Galle mit 14 ml Wasser, 2 ml 0,3 n Bariumhydroxydlösung und 2 ml 5%iger (G/V) Zinksulfatlösung. Im Scheidetrichter schüttelt man 5 ml Filtrat mit 5 ml Butanol und 1 Tr. konz. Salpetersäure. Mit der Butanolphase, die sich spontan trennt, verfährt man wie bei Plasma. *3. Aus Harn.* Im Scheidetrichter schüttelt man 5 ml Harn mit 5 ml Butanol und 1 Tr. konz. Salpetersäure und verfährt weiter wie bei Galle. — *Zur Bestimmung* gibt man in 2 Reagensgläser je 2 ml Boratextrakt der Standardlösung (siehe unten) und in 2 andere je 2 ml Boratextrakt der Untersuchungsprobe, die 0,02—2,0 mg Phlorrhizin enthalten soll. In je ein Glas mit Standard und Probe gibt man 1 ml Wasserstoffperoxydlösung (1 ml Wasserstoffperoxydlösung, [100 Vol.] auf 1 l verdünnen), in die beiden anderen je 1 ml Wasser. Man läßt 2 Std bei Raumtemperatur stehen und mißt die Extinktion bei 490 mμ. Die Wasserblindwerte subtrahiert man von den zugehörigen Extinktionen und ermittelt aus den Standardwerten die Konzentration in den Proben. — *Phlorrhizin-Standardlösungen.* Am besten sind nicht wäßrige Lösungen in Phosphatpufferlösung von p_H 9,1, sondern solche mit den entsprechenden biologischen Flüssigkeiten. 0,4 ml einer wäßrigen 2 m molaren Phlorrhizinlösung versetzt man mit 4 ml der zu prüfenden Lösung (Blut, Galle oder Harn) und unterwirft die Lösungen der gleichen Behandlung wie die Proben.

[1] Biochemic. J. **71**, 138—140 (1959). Univ. Sheffield (England). — [2] Bull. Soc. Chim. biol., **32**, 1023 (1950). E. Müller, Würzburg

Für die Trennung und Bestimmung von Carotinoiden des Blattes hat Cl. Costes[1] ein Verfahren angegeben. Eine genau eingewogene Probemenge wird $^1/_2$ Std bei —20° C in der Dunkelheit in einem Mörser in Aceton über Sand und $CaCO_3$ stehen gelassen. Danach zerkleinert und extrahiert man bis zur völligen Entfärbung des Materials (einschließlich Nachspülen je Gramm Material 100 ml Aceton). Die Extrakte werden durch eine Glasfritte filtriert. Die Operationen sollen in einem Wasserbad von 0° C und unter Ausschluß von Licht vorgenommen werden. Nach einer Behandlung mit 15%iger Kaliumcarbonatlösung enthält die Acetonlösung etwa 80% Aceton. Zur Zerstörung der Chlorophylle und zur kalten Verseifung der Xanthophyllester bleibt sie wenigstens 12 Std in einem Kühlschrank stehen. Nach Überführung der Carotinoide in Petroläther (40—60° C) wird mit 20%iger Kochsalzlösung gewaschen. Die dabei im Petroläther noch verbleibende Menge

an Aceton (etwa 1%) reicht aus, um die Xanthophylle in Lösung zu halten. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wird im Vakuum eingeengt. Zur Chromatographie benötigt man bei einer Probemenge von 0,5 -5 g eine Säule von 13 mm ⌀ mit 6 g Cellulose in einer Höhe von 100 mm. Die mit schwarzem Papier umkleidete Säule wird vor Aufgabe der Carotinoidlösung mit 50 ml Petroläther (KP 40—60° C) gewaschen. Man fängt das Eluat in 2 ml-Anteilen in Küvetten auf und bestimmt die Extinktion aus dem Absorptionsmaximum jeder Fraktion. Bei der Elution wird der Anteil an Aceton stufenweise erhöht, z. B. nach folgendem Schema: 20 ml Petroläther (PÄ), 100 ml PÄ mit 3% Aceton, 25 ml PÄ mit 4% Ac, 50 ml PÄ mit 7% Ac, 60 ml PÄ mit 10% Ac. Die mit A, A′ + B, B′, C und D bezeichneten Fraktionen lassen sich folgenden Carotinoiden zuordnen: A: α- + β-*Carotin*, B: *Lutein* + *Zeaxanthin*, C: *Violaxanthin* + *Flavoxanthin*, D: *Neoxanthin*. Bei A′ handelt es sich wahrscheinlich um *Kryptoxanthin*, bei B′ wahrscheinlich um *Isolutein*. Zur quantitativen Bestimmung werden die Extinktionen der Fraktionen A und A′ bei 450 mμ gemessen und auf eine Eichkurve von β-Carotin bezogen. Bei B, B′ und C wird bei 445 mμ gemessen und die Eichkurve von α-Carotin in Hexan herangezogen. Bei D dient die Messung bei 436 mμ und eine eigene Eichkurve zur Berechnung. Für die getrennte Bestimmung von Violaxanthin und Flavoxanthin wird eine Methode angegeben. Die Verluste durch Oxydation sollen bei diesem Verfahren gering sein.

[1] Ann. Inst. nat. Rech. agronom., Sér. A, **9**, Suppl. 1, 35—48 (1958). Stat. centrale Physiol. végétale, Versailles (Frankreich). L. Acker

Sterine, steroide Sapogenine und Triterpenoide trennt I. Nishioka[1] papierchromatographisch mittels umgekehrter Phasen, wobei flüssiges Paraffin als stationäre Phase dient. Hierbei werden die R_f-Werte in folgender Weise von Substituenten beeinflußt: Vergrößernd wirken in steigendem Maße *—OH*, *=O* und *—Cl*, wenn sie an derselben Stelle bei gleicher sterischer Konfiguration eintreten; bei *Cholestanderivaten* hat eine 3β-OH-Gruppe stärkeren Einfluß als eine 3α-OH-Gruppe. *Doppelbindungen* erhöhen ebenfalls den R_f-Wert. *Acetylierung* oder *Benzoylierung von OH-Gruppen* sowie *Vermehrung von* $=CH_2$*-Gruppen* erniedrigen den R_f-Wert. *Triterpenoide* vom *Oleanantyp* haben größere R_f-Werte als die vom *Ursantyp*. Den R_f-Wert erhöhen der Reihe nach in abnehmendem Maße $—CH_2OH$-, *—COOH- und* $—CH_3$*-Gruppen*, wenn sie in Triterpenoide vom Oleanantyp an derselben Stelle unter Erhaltung der sterischen Konfiguration eintreten.

[1] J. pharmac. Soc. Japan **78**, 1428—1431 (1958) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Kyushu, Katakasu, Fukuoka (Japan). F. Neumann

Die Bestimmung von Cholesterin nach der Methode von A. Zlatkis, B. Zak und A. J. Boyle[1] wird, wie D. N. Rhodes[2] mitteilt, durch *Polyenfettsäuren gestört*, da diese ebenfalls mit Eisen(III)-chlorid in konz. Schwefelsäure oder Essigsäure eine Farbreaktion geben. Der Fehler ist besonders groß bei Gemischen natürlicher Herkunft, die viel Polyensäuren enthalten. Eine Korrektur der erhaltenen Meßwerte ist möglich, wenn man spektralphotometrisch arbeitet. Hierzu muß man die Absorption bei 446 mμ (Maximum von Linoleat), bei 478 mμ (Maximum von Linoleatkomplexen) und 560 mμ (Maximum der Farblösung aus Cholesterin) bestimmen.

[1] J. Lab. clin. Med. **41**, 486 (1953); vgl. diese Z. **148**, 70 (1955/56). — [2] Biochemic. J. **71**, 26 P (1959). Low Temperature Station Res. Biochem. a. Biophysics, Cambridge (England). G. Kainz

Zur Bestimmung von Gesamtlipiden (GL), Cholesterin (C) und Phospholipiden (PL) in Cerebrospinalflüssigkeiten haben E. Roboz, W. C. Hess, R. R. di Nella und W. Cevallos[1] folgendes *Verfahren* näher beschrieben. 10 ml Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) werden mit 20 ml Chloroform/Methanol (2:1) einige Minuten unter Schütteln im Wasserbad auf 85—90° C erhitzt und 20 min bei 1500 U/min zentrifugiert. Nach Entfernung der oberen Phase setzt man 2 ml Methanol zu, filtriert durch ein Schl. & Sch.-Filter „Sharkskin" und wäscht mit Chloroform-Methanol nach. Dann wäscht man den Extrakt mit 4 ml Wasser, trocknet 2mal mit 3 ml Calciumchloridlösung [96,3 ml Chloroform-Methanol (2:1) und 23,7 ml $CaCl_2$-Lösung (20 mg/100 ml) werden geschüttelt; die obere Phase wird verwendet], dampft mit einem Stickstoffstrom bei 45—50° C zur Trockne, löst den Rückstand in 2 ml Chloroform-Methanol und füllt auf 5,5 ml auf. Die Bestimmung der GL erfolgt nach J. H. Bragdon[2]. 2 ml der Lösung werden bei 45° C im Stickstoffstrom eingedampft und der Rückstand mit 1 ml Chromsäurereagens (2 g $K_2Cr_2O_7$ gelöst in 100 ml konz. Schwefelsäure) 30 min auf 100° C erhitzt. Nach dem Abkühlen fügt man 4 ml Wasser zu und mißt nach 10 min die Extinktion bei 580 mμ. Zur *Bestimmung von freiem Cholesterin* (FC) und *Estercholesterin* (EC) löst man den trockenen Lipidextrakt von 10 ml CSF in 5 ml Petroläther, bringt die Lösung auf eine Aluminiumoxydsäule (1,27 × 12,7 cm) und wäscht mit 5 ml Petroläther nach. Das EC eluiert man nun mit 20 ml Äthyläther-Petroläther (1:9) und anschließend das FC mit 35 ml Äthanol-Petroläther (1:9). Beide Eluate werden zur Trockne gedampft, in 3 ml Eisessig gelöst und mit 2 ml Eisenchloridreagens versetzt (1 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ in 10 ml Eisessig; 1 ml verdünnt man auf 100 ml mit konz. Schwefelsäure). Innerhalb der folgenden 4 Std kann die Extinktion bei 560 mμ gemessen werden. Stehen weniger als 10 ml SPF zur Verfügung, so wird die *Gesamtcholesterin*-Bestimmung nach H. H. Brown, A. Zlatkis, B. Zak und A. J. Boyle[3] empfohlen. Die Bestimmung der *Phospholipide* erfolgt am besten mit einer Modifikation des Verfahrens von O. H. Lowry, N. R. Robert, K. Y. Leiner, M. Wu und A. L. Farr[4]. Ein Aliquot des Lipidextraktes wird zur Trockne gedampft und mit 0,75 ml Oxydationsgemisch (32,5 ml 70%ige Perchlorsäure + 250 ml 20 n Schwefelsäure mit Wasser auf 1 Liter auffüllen) 2 Std auf 95° C und 2 Std auf 165° C erhitzt. Nach dem Abkühlen setzt man 4,5 ml Molybdatreagens zu (10 ml 0,25%ige Ammoniummolybdatlösung in 0,1 n Natriumacetatlösung werden kurz vor Gebrauch mit 1,0 ml 10%iger Ascorbinsäurelösung versetzt) und mißt die Extinktion bei 820 mμ. — Man bezieht alle Messungen von GL, C und BL auf geeignete Standardproben: Bei GL empfiehlt sich ein Serum von bekanntem GL-Gehalt; bei C freies Cholesterin in Eisessig und bei PL eine 0,4 mmolare KH_2PO_4-Lösung. Die Menge PL ergibt sich dann aus der gefundenen Menge Phosphor mal 26. Alle beschriebenen Methoden erfassen 98—100% der vorhandenen Lipide.

[1] J. Lab. clin. Med. **52**, 158—162 (1958). Georgetown Univ., Schools Med. Surgery, Washington, D.C. (USA). — [2] J. biol. Chemistry **190**, 513 (1951); vgl. diese Z. **135**, 461 (1952). — [3] Analyt. Chemistry **26**, 397 (1954); vgl. diese Z. **146**, 159 (1955). — [4] J. biol. Chemistry **207**, 1 (1954); vgl. auch diese Z. **153**, 458 (1956).

H. Pelzer

Spektroskopische Angaben über die Farbreaktion einer Reihe von Steroiden mit dem Eisenchloridreagens nach Zak machten F. Bischoff und J. G. Turner jr.[1]. Es wurden die Spektren von *15 Steroiden aus der Cholesteringruppe* sowie von *Dehydroisoandrosteronacetat*, *Testosteron* und *Progesteron* aufgenommen und die Maxima, Minima sowie die molaren Extinktionskoeffizienten mit denen in konz. Schwefelsäure verglichen. Die eingesetzten Mengen waren 0,1—0,3 mg, bei Testosteron 1,0 mg. Die Spektren nach B. Zak sind für Sterine zum Teil spezifisch;

die Maxima liegen im gelben oder rot-violetten Bereich (5-en-3β-ol-Gruppe). Es wurden nur extrem reine Testsubstanzen geprüft. — *Arbeitsweise* (Modifizierung der Methode nach B. Zak, N. Moss, A. J. Boyle und A. Zlatkis[2]): 0,01—1,0 mg Steroid löst man in 1,0 ml Eisessig, fügt 4,0 ml einer frisch bereiteten, kalten Lösung von 2,5 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ in 75 ml Eisessig, 50 ml 96%ige Schwefelsäure und 50 ml Eisessig zu, mischt, läßt 2 Std bei Raumtemperatur stehen und mißt dann im Spektrophotometer die Extinktionen.

[1] Clin. Chemistry **4**, 300–303 (1958). Cottage Hosp. Res. Inst., Santa Barbara, Calif. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **26**, 776 (1954). H. Pelzer

Eine spektrophotometrische Bestimmung von Δ^4-3-Ketosteroiden mit Salicyloylhydrazid mit besonderer Anwendung auf Harn-Aldosteron, die von P. S. Chen jr.[1] beschrieben wird, beruht auf der Bildung charakteristischer Hydrazone, die stark im UV absorbieren. Zur Bestimmung von Aldosteron wird dieses papierchromatographisch gereinigt, mit Salicyloylhydrazid umgesetzt und von überschüssigem Reagens papierchromatographisch oder durch Lösungsmittelextraktion befreit. Die Absorption des entstandenen Hydrazons wird bei 270, 295 und 320 mμ gemessen und durch eine Filterpapierblindprobe sowie mit Hilfe der Allenschen Formel korrigiert. Von 6 Bestimmungen bei einem Aldosterongehalt von 17,9 μg betrug der mittlere Fehler 1,37 μg. — *Arbeitsweise zur Bestimmung von Harn-Aldosteron. Extraktion des Steroids aus Harn.* Man versetzt eine Harnprobe mit konz. Salzsäure bis p_H 1, extrahiert 20 Std mit 350 ml Dichlormethan, wäscht den Extrakt mit 30 ml 1 n Natronlauge und 30 ml Wasser, wäscht die wäßrigen Phasen mit 20 ml Dichlormethan zurück und verdampft das Lösungsmittel aus den vereinigten Lösungsmittelphasen unter vermindertem Druck bei 35° C. — *Papierchromatographische Trennung.* Man löst den Urinextrakt in wenig Alkohol, trägt ihn auf einer Geraden in der Mitte eines 18 cm langen Whatman-Papierstreifens neben 10 μg-Vergleichsproben von Cortisol und Cortison auf. Man chromatographiert 5 Std nach dem Bush C-System[2], markiert die im UV (254 mμ) absorbierenden Zonen und schneidet die mittlere Cortisolfläche aus. Zur Elution rollt man das Filterstückchen auf, bedeckt es in einem Reagensgläschen mit einem bekannten Volumen Alkohol, entnimmt nach 1 Std einen aliquoten Anteil und trocknet in einem feinen N_2-Strom bei 35° C im Wasserbad. Man trägt die so erhaltene Cortisol-Aldosteron-Mischung in gleicher Weise, aber in 3 Tüpfelflecken zwischen Cortisol und Cortison, auf einen Filterpapierstreifen auf und entwickelt 20 Std nach dem E_2B-System[3]. Man markiert die Flecken wieder nach dem Betrachten im UV-Licht, berechnet die Wanderung des Aldosterons als 0,72 der des Cortisols, schneidet eine Zone $\pm$ 3 cm von diesem berechneten Punkt aus, eluiert wie oben und trocknet einen aliquoten Anteil in einem 15 ml-Zentrifugenröhrchen. — *Reaktion mit Salicyloylhydrazid.* Man versetzt das oben genannte und ein 2. Röhrchen mit 0,1 ml 10 m molarer Salicyloylhydrazidlösung in abs. Alkohol, 0,01 ml Eisessig und 0,5 ml Alkohol, löst die feste Substanz unter Drehen, erwärmt 30 min in einem Wasserbad von 60° C und trocknet mit einem N_2-Strom, während das Röhrchen im Wasserbad bleibt. — *Abtrennung des überschüssigen Reagenses.* Man löst den Inhalt beider Röhrchen in Dichlormethan/Methanol (1:1), tüpfelt auf Filterpapierstreifen und chromatographiert über Nacht mit Benzol, das mit Wasser gesättigt ist. Die Aldosterolhydrazone bleiben im gleichen Fleck, während nicht umgesetzte Steroide, Verunreinigungen und überschüssiges Salicyloylhydrazid und andere Hydrazone entfernt werden. — *Elution und spektrophotometrische Bestimmung.* Die Ausgangstüpfelflecke jeder Probe werden ausgeschnitten, in einem Röhrchen mit 2,5 ml 50%igem Alkohol bedeckt, bis gerade eben zum Sieden erhitzt, gekühlt und in eine Quarzküvette dekantiert. Man mißt die Absorption bei 270, 295 und

320 mμ und berechnet den Aldosterongehalt nach der mit Hilfe einer Standardkurve abgeleiteten Formel: μg Aldosteron = 120 $[A_{295} - (A_{270} + A_{320})/2]$. Zur Berechnung des Gesamtgehaltes sind dann noch die Verdünnungen beim Auftragen der Chromatogramme zu berücksichtigen.

[1] Analyt. Chemistry **31**, 292—296 (1959). Nat. Heart Inst., Bethesda, Md. (USA). — [2] Bush, I. E.: Biochemic. J. **50**, 370 (1952); vgl. diese Z. **137**, 440 (1952/53). — [3] Eberlein, W. R., u. A. M. Bongiovanni: Arch. Biochem. Biophysics **59**, 90 (1955); vgl. diese Z. **153**, 460 (1956). Hildegard Pluskal

Die qualitative Papierchromatographie von Δ^4- und $\Delta^{1,4}$-3-Ketosteroiden an vollacetyliertem Papier (VAP) ergibt nach F. J. Ritter und J. Hartel[1] bessere Trennungen als an dem bislang verwendeten teilacetylierten. Auch lassen sich die R_f-Werte hiermit besser reproduzieren. Mit 3 verschiedenen Lösungsmittelsystemen kann man auf VAP eine große Zahl wenig polarer bis stark polarer Steroide chromatographieren. — *Arbeitsweise.* Whatman-Papier Nr. 1 wird nach J. W. H. Zijp[2] acetyliert. Man bringt 16 Streifen (46,7 × 14 cm, leicht gerollt) zusammen in einen Zylinder von 2 l Inhalt, überschichtet die Papiere mit Eisessig und dekantiert diesen nach 16 Std wieder ab. Nun füllt man eine auf 10° C abgekühlte Mischung von 440 ml Essigsäureanhydrid, 545 ml Eisessig, 1250 ml Toluol und 1,25 ml 60%iger Perchlorsäure ein und rührt vorsichtig 24 Std unter Eiskühlung. Dann läßt man die Papiere auf einer Nutsche abtropfen, löscht sie zwischen gewöhnlichem Fließpapier und wäscht sie schließlich 3—4 Std mit fließendem Leitungswasser. Nach dem Trocknen an der Luft und anschließend 10 min bei 100° C sind die Papiere gebrauchsfertig. Die Steroide werden, zu 1% in Methanol oder Äther gelöst, aufgetragen. Aceton und Chloroform lösen das VAP auf. 3 Lösungsmittelsysteme haben sich zur Steroidtrennung gut bewährt: A. Benzol—Methanol—Wasser (1:10:3) (einphasisch); B. Benzol—Methanol—Wasser (4:4:1) (zweiphasisch), mit der oberen Schicht als mobile und der unteren als stationäre Phase; C. wie B., aber Phasen vertauscht. Es wird aufsteigend bei 25° C chromatographiert, jedoch soll auch das absteigende Verfahren von Vorteil sein. Nach der Chromatographie trocknet man die Streifen 15 min bei 60° C. Δ^4-3-Ketosteroide und $\Delta^{1,4}$-3-Ketosteroide können dann unter einer UV-Lampe (253,7 mμ) als dunkle Flecken lokalisiert werden. Spezifisch für Δ^4-3-Ketosteroide ist die Fluorescenzmethode von I. E. Bush[3], bei welcher die Steroide unter einer „Chromatolux"-Lampe (360 mμ) als gelbe Flecken auf purpurnem Untergrund erscheinen. Die Nachweisgrenze beträgt 0,25—2 μg. Taucht man das Chromatogramm in flüssigen Stickstoff, so werden noch geringere Mengen sichtbar, und die Flecken zeigen ein Nachleuchten. Δ^4-3-Ketosteroide können auch mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH) in Alkohol nachgewiesen werden. Eine wäßrige Lösung färbt auf dem hydrophoben Papier nicht an. $\Delta^{1,4}$-3-Ketosteroide reagieren langsamer mit DNPH. — Das neuerdings im Handel befindliche Papier 2043a „vollacetyliert" von Schl. & Sch. hat ähnlich gute Eigenschaften. — Das Original enthält Angaben über die R_f-Werte von 20 Steroiden und Steroidacetaten.

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **1**, 461—470 (1958). Central Lab. T.N.O., Delft (Niederlande). — [2] Chem. Weekbl. **51**, 547 (1955); vgl. diese Z. **150**, 427 (1956). — [3] Biochemic. J. **50**, 372 (1952); vgl. diese Z. **137**, 440 (1952/53). H. Pelzer

Eine Methode zur papierchromatographischen Trennung und quantitativ-colorimetrischen Bestimmung der 17-Ketosteroide (17-KS) im Urin wurde von P. Göbel, F. Heni und A. d'Addabbo[1] ausgearbeitet. Es handelt sich um eine sinnvolle Anwendung schon bekannter Verfahren auf routinemäßige 17-KS-Trennungen und -Bestimmungen im klinischen Laboratorium. Die einfache apparative Ausrüstung, verbunden mit der Möglichkeit zu großen Reihenuntersuchungen, wiegt

die kleinen prinzipiellen Fehler des Verfahrens auf. — *Arbeitsweise.* Ein Anteil eines 24 Std-Harnes wird nach S. Lieberman, B. Mond und E. Smyles[2] 3 Tage bei 37° C mit 300 E β-Glucuronidase/ml in Acetatpuffer p_H 5 bebrütet und anschließend nach Ansäuern mit Schwefelsäure auf 2 n mit Äther kontinuierlich 48 Std extrahiert. Den Extrakt wäscht man mit Natronlauge und Wasser, dampft zur Trockne und trennt mit Girard-T-Reagens in ketonische und nichtketonische Anteile. Die Ketonfraktion wird auf einen Streifen Schl. u. Sch.-Papier Nr. 2043b (3,9×56 cm), das vorher mit Propylenglykol/Aceton (1:4) imprägniert wurde, aufgetragen. Man entwickelt das Chromatogramm nach L. R. Axelrod[3] mit an Propylenglykol gesättigtem Methylcyclohexan bei 24—25° C je nach Erfordernis 3,6 oder 21 Std. Anschließend wird der Streifen durch eine 2%ige Lösung von m-Dinitrobenzol in Äthanol/30%ige alkoholische Kalilauge (3:2) gezogen, 10 min bei 40° C getrocknet und nach G. Oertel[4] quantitativ colorimetrisch ausgewertet. Das Papier wird hierfür in α-Bromnaphthalin/Paraffinöl (1,3:4) transparent gemacht und die Farbintensität in einem Extinktionsschreiber Zeiß II mit Filter FE53 kontinuierlich gemessen. Die Berechnung der Prozentanteile geschieht dann auf übliche Weise durch Auswertung der Kurvenflächen. Die Reproduzierbarkeit ist infolge der guten Trenneffekte in dem verwendeten Chromatographiesystem gut. Die Lage der Banden ermittelt man am besten mit Hilfe von Teststeroiden. Bezüglich der Spezifität des Verfahrens siehe das ausführliche Original.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **311**, 201—212 (1958). Univ. Tübingen. — [2] Recent Progr. Hormone Res. **9**, 113 (1954). — [3] J. biol. Chemistry **205**, 173 (1953). — [4] Acta endocrinol. **16**, 263 (1954). H. Pelzer

Eine quantitative Methode zur chromatographischen Trennung von 17-Ketosteroidsulfaten (17-KSS) von 17-Ketosteroidglucuroniden (17-KSG) mit Angaben über das Verhalten von konjugierten Corticosteroiden im selben System beschreiben J. J. Barlow und A. E. Kellie[1]. Verff. fanden eine neue Möglichkeit zur chromatographischen Trennung der beiden Konjugationsformen an Aluminiumoxyd (Al_2O_3). Eine Bestimmung der 17-ketogenen Steroide (17-KGS, 17-Hydroxy-20-keto-C_{21}-Steroide) nach J. K. Norymberski[2] ergab, daß diese fast ausschließlich mit Glucuronsäure konjugiert (17-KGSG) oder in freier Form im Harn ausgeschieden werden. — *Arbeitsweise.* Man extrahiert den Harn nach R. W. H. Edwards, A. E. Kellie und A. P. Wade[3] nach Zugabe von 50 g Ammoniumsulfat/100 ml mit 3mal 0,5 Vol. Äther/Äthanol (3:1). Der Extrakt wird filtriert und dann unmittelbar auf eine Al_2O_3-Säule gebracht (3 g/10 ml Harn oder 40 g/200 ml Harn). Der Wassergehalt des Al_2O_3 („neutral") kann zwischen 0 und 10% variieren. Die Chromogene werden adsorbiert, das Filtrat ist fast farblos. Es enthält weniger als 5% der totalen 17-KS (freie 17-KS). Nun wird mit Äthanol gewaschen (keine 17-KS). Mit Äthanol/Wasser (1:1) werden dann die 17-KSS und anschließend mit 1 m Acetatpuffer p_H 5,0 die 17-KSG und 17-KGSG eluiert. Zur quantitativen Bestimmung hydrolysiert man die Fraktionen mit heißer Säure (17-KS) bzw. mit β-Glucuronidase (17-KS + 17-KGS) und mißt nach der Extraktion auf übliche Weise die 17-KS und die 17-KGS. — Versuche zur Trennung einzelner 17-KSG oder 17-KGSG durch Gradientenelution mit verändertem p_H bzw. veränderter Ionenstärke waren erfolglos. Dagegen ist zu bemerken, daß die Sulfatfraktion etwa 10—15% 17-KS in einer Konjugationsform enthält, die zwar durch heiße Säurehydrolyse gespalten wird, aber stabil ist gegen kontinuierliche Ätherextraktion bei p_H 1[4].

[1] Biochemic. J. **71**, 86—91 (1959). Middlesex Hosp. Med. School, London (England). — [2] Nature (London) **170**, 1074 (1952); vgl. diese Z. **141**, 317 (1954). — [3] Mem. Soc. Endocrin. **2**, 53 (1953). — [4] Recent Progr. Hormon Res. **3**, 71 (1948). H. Pelzer

Über die Trennung und Identifizierung mehrerer 17-Ketosteroidglucuronide (17-KSG) aus Harn mittels kombinierter, elektrophoretischer und chromatographischer Methoden berichten H. Pelzer, W. Staib und D. Ott[1]. Im Gegensatz zu den freien 17-Ketosteroiden (17-KS), die man aus dem Harn nach Hydrolyse extrahieren kann, lassen sich die Steroidkonjugate in einem Schritt nicht so weitgehend anreichern. Durch Butanol werden eine große Menge Begleitstoffe mitextrahiert, die bei einer chromatographischen Trennung der einzelnen Konjugate stören. Nach einer Grobreinigung an einer Aluminiumoxydsäule nach O. Crépy, M. F. Jayle und F. Meslin[2] können die Steroidkonjugate jedoch elektrophoretisch nach H. Pelzer und W. Staib[3] wie auch papierchromatographisch nach M. L. Lewbart und J. J. Schneider[4] bzw. nach I. E. Bush[5] aufgetrennt und anschließend quantitativ bestimmt werden. — *Arbeitsweise.* Ein 48 Std-Harn wird mit Salzsäure auf p_H 2,5 gebracht, mit Natriumsulfat gesättigt und mit n-Butanol extrahiert. Man neutralisiert den Extrakt mit Natriumhydrogencarbonat, dampft im Vakuum auf $^1/_{10}$ Volumen (450 ml) ein, trennt vom Unlöslichen ab und fügt 1% Wasser zu. Nun filtriert man durch eine Aluminiumoxydsäule, die mit Butanol äquilibriert ist (19 × 170 mm, Al_2O_3 stand. nach Brockmann). Dann wird mit folgenden Lösungsmitteln eluiert (2 ml/min): I. 465 ml Butanol (B)/1% Wasser (W), II. 600 ml B/2% W, III. 300 ml B/6% W, IV. 400 ml B/10% W, V. 1500 ml B/15% 0,1 n NH_4OH. Fraktion V dampft man im Vakuum zur Trockne, löst in einer bestimmten Menge Methanol und trägt ein geeignetes Volumen zur Papierchromatographie auf. Im System III nach M. L. Lewbart und J. J. Schneider[4] erhält man folgende R_f-Werte (bezogen auf Bromkresolgrün = 1,0): 11-Hydroxy- und 11-Keto-17-KSG 0,62; Androsteronglucuronid 0,93; Ätiocholanolonglucuronid 1,00. Durch eine Rechromatographie der R_f 0,62-Zone in tert. Butanol/Toluol/Eisessig/Wasser mit 2% konz. HCl[5] kann diese weiter aufgetrennt werden. Die Lokalisation der 17-KSG erfolgt auf dem Papier entweder direkt durch Anfärbung mit Zimmermann-Reagens oder zur besseren quantitativen Auswertung durch Photoprintaufnahmen im UV. Die UV absorbierenden Begleitstoffe ermöglichen nach einiger Übung die genaue Lokalisation der 17-KSG. Diese werden dann ausgeschnitten und quantitativ nach Reaktion mit Zimmermann-Reagens bestimmt.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **312**, 15—21 (1958). Physiol.-chem. Inst., Med. Akad., Düsseldorf. — [2] Acta endocrinol. **24**, 233 (1957). — [3] Clin. chim. Acta **2**, 407 (1957); vgl. diese Z. **164**, 295 (1958). — [4] Nature (London) **176**, 1175 (1955); vgl. diese Z. **153**, 459 (1956). — [5] Biochemic. J. **67**, 23P (1957); vgl. diese Z. **164**, 295 (1958). H. Pelzer

Über die Bestimmung der endständigen Aminosäuren der Wachstumshormone (Somatropine) in den Hirnanhangdrüsen von Mensch, Rhesusaffe, Buckelwal und Rind berichten A. J. Parcells und C. H. Li[1]. Die Somatropine sind nach bereits früher beschriebenen Verfahren[2–4] aus den Hirnanhangdrüsen isoliert worden. Durch stufenweisen Abbau der Wachstumshormone, welcher nach einer Modifikation[5] der von P. Edman[6] angegebenen Methode herbeigeführt worden ist, sowie (im Falle des Rinderhormons) durch teilweise Säurehydrolyse konnten für die einzelnen Somatropine die endständigen und an diese anschließenden Aminosäuren identifiziert werden. Bei den genannten Species zeigen sich teils signifikante Unterschiede.

[1] J. biol. Chemistry **233**, 1140—1142 (1958). Univ. Berkeley, Calif. (USA). — [2] Li, C. H., u. H. Papkoff: Science **124**, 1293 (1956). — [3] Papkoff, H., u. C. H. Li: J. biol. Chemistry **231**, 367 (1958). — [4] Li, C. H.: J. biol. Chemistry **211**, 555 (1954). — [5] Fraenkel-Conrat, H.: J. Amer. chem. Soc. **76**, 3606 (1954). — [6] Acta chem. Scand. **4**, 283 (1950); vgl. diese Z. **143**, 40 (1954); **153**, 388 (1956). K. Machner

Die Reinigung der Hormone mit Aktivkohle vor Anwendung des Kober-Testes zur Bestimmung der Oestrogene, wie sie von W. Pschyrembel und G. Halder[1] beschrieben wird, ist nach B. Rässler und W. Hohlweg[2] nicht brauchbar, da 75% der Oestrogene an der Kohle adsorbiert und so der Bestimmung entzogen werden.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **306**, 154 (1957); vgl. diese Z. **161**, 155 (1958). — [2] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **310**, 281—283 (1958). Inst. exper. Endokrinol., Charité, Berlin. Ursula Baumann

Eine neue Methode zur chemischen Bestimmung der oestrogenen Hormone im Harn beschreibt G. Ittrich[1]. Das Verfahren beruht auf einer selektiven Extraktion des Kober-Chromogens[2] mit p-Nitrophenol in Chloroform und somit in einer starken Verminderung der sonst erheblichen Störfarben. Der Extrakt kann dann bei seinem Extinktionsmaximum (538,5 mμ) gemessen werden. Da der Verlauf der Extinktionskurve im Bereich des Maximums bedeutend steiler ist als bei der bisherigen Bestimmung, herrschen wesentlich günstigere Bedingungen für die Allen-Korrektur[3] der verbliebenen Hintergrundfarben vor. Die Empfindlichkeit des Nachweises läßt sich erheblich steigern durch Messung der Fluorescenz mit einem Primärfilter Hg 546 und einem Sekundärfilter Hg 578. Die colorimetrische Messung eignet sich für Mengen zwischen 0,2 und 20 μg, die fluorimetrische für 0,005 bis 0,5 μg Oestron (I). Die molaren Extinktionen von Oestron, Oestradiol-17β (II) und Oestriol (III) sind deutlich verschieden, weshalb bei Gesamtbestimmungen nur Angaben in Oestrogen-Äquivalenten gemacht werden können. Erfolgt dagegen die Bestimmung nach einer chromatographischen Trennung der drei Hormone an Aluminiumoxyd, so kann man durch Einsetzen von Faktoren die tatsächlichen Mengen der einzelnen Komponenten ermitteln. — *Arbeitsweise. a) Gesamtoestrogen-Bestimmung.* 0,1 ml Harn + 1 ml Äthanol/Benzol (1:1) werden im Wasserbad zur Trockne gedampft. Zum Rückstand fügt man 1 ml Hydrochinonreagens (2 g in 100 ml 68 Vol-% Schwefelsäure), erhitzt 40 min am siedenden Wasserbad, kühlt 3 min in Eiswasser ab, versetzt mit 1,4 ml Wasser und kühlt wieder ab. 3 min später schüttelt man mit 2,5 ml 2%iger p-Nitrophenollösung in Chloroform (1% Äthanol enthaltend) gut durch. Nach dem Zentrifugieren und Absaugen der oberen Phase einschließlich der Trennungsschicht wird colorimetrisch oder fluorimetrisch gegen einen Reagentienleerwert gemessen. Nach der Allen-Korrektur[3] ist bei der Colorimetrie $E_{\text{korr}} = E_{538,5} - 0{,}5 \cdot E_{500} - 0{,}5 \cdot E_{577}$. — *b) Getrennte Bestimmung.* Man verdünnt eine Harnmenge, die maximal 4 μg Oestrogene enthält, mit Wasser auf 10 ml, setzt 1,5 ml konz. Salzsäure zu und erhitzt 1 Std am siedenden Wasserbad. Dann wird mehrmals mit Äther extrahiert, der vereinigte Äther mit 8%iger Natriumhydrogencarbonatlösung sowie mit Wasser gewaschen und zur Trockne gebracht. Den Rückstand löst man in 4 ml warmen Benzols, fügt 4 ml Petroläther zu und extrahiert die Oestrogene mit 1%iger Natronlauge. Nun wird mit konz. Salzsäure schwach angesäuert, mit 0,5 g $NaHCO_3$ versetzt und wieder mit Äther extrahiert. Den trockenen Ätherrückstand löst man in 6 ml Benzol/Tetrachlorkohlenstoff (1:2), bringt auf eine Aluminiumoxydsäule (3 g Al_2O_3 mit 4% Wasser, 10 mm ⌀), wäscht mit CCl_4 und Benzol nach und eluiert nun mit 9 ml 0,8% Äthanol in Benzol (Vorlauf), 10 ml 0,8% Äthanol in Benzol (I), 15 ml 3% Äthanol in Benzol (II) und 15 ml 20% Äthanol in Benzol (III). Nach dem Abdampfen der Lösungsmittel werden die Eluatfraktionen wie oben beschrieben bestimmt.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **312**, 1—14 (1958). Charité, Berlin. — [2] Kober, S.: Biochem. Z. **239**, 209 (1931). — [3] Allen, W. M.: J. clin. Endocrinol. **10**, 71 (1950). H. Pelzer